

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

N° _____

THÈSE 727

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

PAR

Rogelio CHUC

Né le 2 Octobre 1906 à Totonicapan (Guatemala)

**Fixation et Elimination
de la Vitamine C**

Président de Thèse : M. Ch. CHAMPY, Professeur

LIBRAIRIE MÉDICALE MARCEL VIGNÉ - PARIS

1935

727

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1935

N° _____

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention Médecine)

PAR

Rogelio CHUC

Né le 2 Octobre 1906 à Totonicapan (Guatemala)

Fixation et Elimination de la Vitamine C

Président de Thèse : M. Ch. CHAMPY, Professeur

LIBRAIRIE MÉDICALE MARCEL VIGNÉ - PARIS

1935

I. — PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	ROUVIERE
Physiologie	BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	DESGREZ.
Bactériologie	DEBRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	BRUMPT.
Pathologie médicale et générale	BAUDOUIN.
Pathologie chirurgicale	CHEVASSU.
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.....	TIFFENEAU.
Thérapeutique	HARVIER.
Hygiène et médecine préventive.....	TANON.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.....	LAIGNEL-LAVASTINE
Pathologie expérimentale et comparée.....	FIESSINGER.
Hydrologie thérapeutique et climatologie.....	Maurice VILLARET.
Clinique médicale	LOEPER.
	CARNOT.
	CLERC.
	Marcel LABBE.
Hygiène et clinique de la première enfance.....	LEREBoullet.
Clinique des maladies des enfants.....	NOBECOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.....	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.....	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses	LEMIERRE.
	CUNEO.
Clinique chirurgicale	GOSSET.
	GREGOIRE.
	LENORMANT.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	MARION.
	BRINDEAU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.....	OMBREDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	RATHERY.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Clinique de la Tuberculose	BEZANÇON.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte.....	MATHIEU.
	HOVELACQUE.
	MULON.
Professeurs sans chaire	OLIVIER.
	VERNE.
	MOCQUOT.



II. — AGREGES EN EXERCICE

MM.

BENARD Henri... Pathologie médicale.
 BERNARD E. .. Pathologie médicale.
 BESANÇON (J.). Hydrologie.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BULLIARD Histologie.
 CATHALA Pathologie médicale.
 CHEVALLIER.. Pathologie médicale.
 DOGNON Physique.
 FEY Urologie.
 GALLIARD . .. Parasitologie.
 GASTINEL Bactériologie.
 DE GAUDART D'ALLAINES..... Pathologie chirurgicale.
 GAYET Physiologie.
 GIROUD Histologie.
 HAGUENAU . Pathologie médicale.
 HALPHEN Oto-rhino-laryngologie.
 HAZARD Pharmacologie.
 HUGUENIN .. Anatomie pathologique.
 JOANNON Hygiène.
 LABBE (Henri). Chimie biologique.
 LACOMME ... (Obstétrique.
 LANTUEJOUL. (

MM.

LAROCHE (Guy) Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LEVEUF Pathologie chirurgicale.
 M^{lle} J. LEVY .. Pharmacologie.
 LEVY-VALENSI Neuro-psychiâtrie.
 MOREAU Pathologie médicale.
 MOULONGUET. Pathologie chirurgicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 OBERLING Anatomie pathologique.
 PETIT-DUTAILLIS..... Pathologie chirurgicale.
 PIEDELIEVRE. Médecine légale.
 PORTES Obstétrique.
 RICHEL Physiologie.
 SANNIE Chimie biologique.
 SENEQUE Pathologie chirurgicale.
 TROISIER Pathologie expérimentale et comparée.
 TURPIN Pathologie médicale.
 VIGNES Obstétrique.
 WILMOTH Pathologie chirurgicale.

III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 BUSQUET Pharmacologie.
 CHAILLEY-BERT Physiologie.

MM.

LEROUX Anatomie pathologique.
 NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
 ZIMMERN Physique.

IV. — AGREGES CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE à titre permanent

MM.

ABRAMI Clinique médicale.
ALAJOUANINE. Clinique médicale.
AUBERTIN Clinique médicale.
BRULE Clinique médicale.
CHABROL Clinique médicale.
CHIRAY Clinique médicale.
DONZELOT .. Clinique médicale.
DUVOIR Clinique médicale.
LIAN Clinique médicale.

MM.

PASTEUR-VALLERY-RADOT. Clinique
médicale.
SEZARY Clinique médicale.
ECALLE Clinique obstétricale.
GUENIOT Clinique obstétricale.
LE LORIER ... Clinique obstétricale.
LEVY-SOLAL.. Clinique obstétricale.
METZGER Clinique obstétricale.

MM.

BASSET Clinique chirurgicale.
BROCQ Clinique chirurgicale.
CADENAT Clinique chirurgicale.
GATELLIER .. Clinique chirurgicale.
HEITZ-BOYER. Clinique chirurgicale.
MOURE Clinique chirurgicale.
QUENU Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ ... Clinique chirurgicale.
VELTER Clinique obstétricale.

V. — CHARGES DE COURS

MM.

CHAILLEY-BERT, agrégé Education physique.
LEDOUX-LEBARD Radiologie clinique
WEIL-HALLE Puériculture.
FREY Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON VENERE PERE,

*Avec toute ma gratitude, pour
m'avoir conduit dans cette noble
voie.*

A MON ADOREE MERE (*In memoriam*)

A MA FEMME,

*Qui, par son dévouement, a
rendu ma tâche plus douce.*

A MON FILS MIGUEL,

*Mon espoir et mes plus tendres
pensées.*

A MA SŒUR JOSEFA,

*Pour les privations que vous vous
êtes imposées, en vue de mon ins-
truction.*

A MES FRÈRES NARCISO ET VITOR-MANUEL,

*Comme preuve de mon amour
fraternel.*

A LA FAMILLE DE MA FEMME:

MONSIEUR ALPHOSE LABBE (*In memoriam*).

MADAME VEUVE A. LABBE.

MONSIEUR ET MADAME LAVALLARD.

MADemoiselle GysÈle LAVALLARD.

MONSIEUR ET MADAME E. LAMBERT.

MONSIEUR ET MADAME P. CLABAUT.

MADAME RÉGina LABBE.

*En Hommage à leur bonté et aux
encouragements qu'ils m'ont si sou-
vent témoigné, qu'ils trouvent ici
l'expression de ma profonde affec-
tion.*

A MONSIEUR J.-L. BOUDOUSSE,

*Pour le bon accueil qu'il m'a
toujours réservé.*

A TOUS MES AMIS.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR CHAMPY,
Professeur d'Histologie à la Faculté de médecine
de Paris

*Pour m'avoir accueilli dans son
laboratoire, et m'avoir fait le grand
honneur d'accepter la présidence
de cette thèse.*

*Ma très respectueuse reconnais-
sance.*

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ GIROUD

Hommage de profonde reconnaissance. En remerciement des précieux conseils en vue de l'élaboration de ce travail, et à qui je le dois.

J'ai pu goûter près de vous le bonheur qui environne le labeur des hommes de science.

A MONSIEUR LE DOCTEUR CHARLES-PHILIPPE LEBLOND

*Qui en toutes circonstances a été
d'une grande amabilité et dont
l'amitié m'est très chère.*

A MONSIEUR RAKOTO RATSIMAMANGA,

*Pour la franche camaraderie qui
nous a unis.*

A MADAME RABINOWICZ, A MONSIEUR CHALOPIN

ET A TOUS MES AMIS

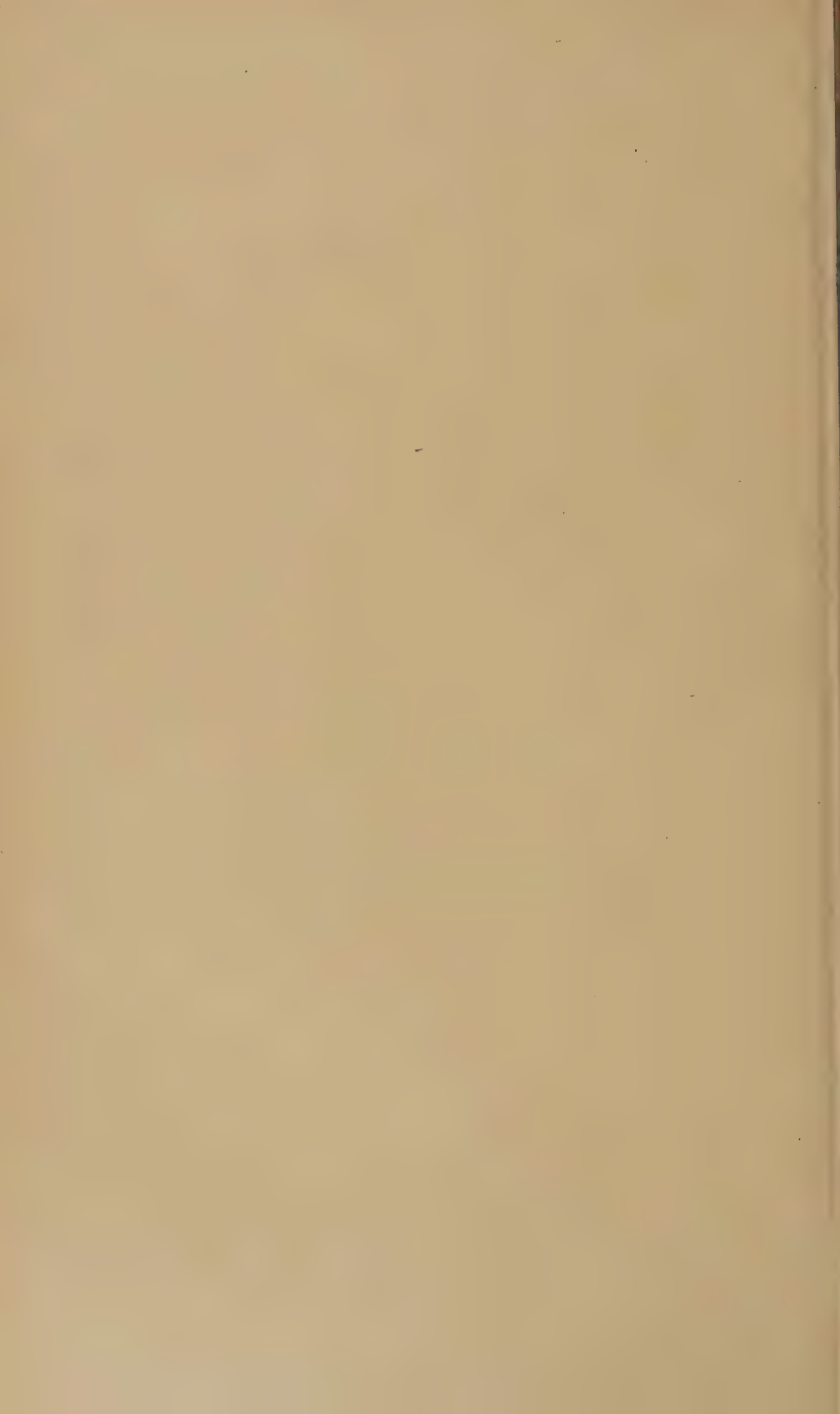
DU LABORATOIRE D'HISTOLOGIE

A MES MAITRES DE LA FACULTE
ET DES HOPITAUX

*Pour l'enseignement qu'ils m'ont
donné.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR BRUMPT,
Professeur de Parasitologie
à la Faculté de Médecine de Paris

A MONSIEUR LE DOCTEUR CATHALA,
Accoucheur des Hôpitaux de Paris



PREMIÈRE PARTIE

LA VITAMINE C ET SA REPARTITION

CHAPITRE I. — *Nature chimique et propriété.*

L'acide ascorbique.

Propriétés physiologiques.

Troubles produits par l'absence du facteur C
dans l'alimentation.

CHAPITRE II. — *Méthodes de recherche de la vitamine C.*

CHAPITRE III. — *Répartition de la vitamine C dans l'organisme.*

DEUXIÈME PARTIE

EVOLUTION DE LA VITAMINE C DANS L'ORGANISME

CHAPITRE I. — *Variation du taux de vitamine C des organes.*

Synthèse.

Apport alimentaire.

Destruction et élimination.

CHAPITRE II. — *Fixation de la vitamine C dans les tissus à la suite des injections.*

CHAPITRE III. — *Élimination de la vitamine C par le rein.* Etude chimique et histologique.

CONCLUSION.



INTRODUCTION

Les formes typiques de scorbut que peut déterminer une alimentation privée de vitamine C sont heureusement bien rares de nos jours.

Cependant les constatations cliniques ont introduit la conception d'états anormaux consécutifs à l'ingestion de doses insuffisantes de vitamine. Les scorbutus frustes peuvent alors se manifester avec les symptômes (anémies, états hémorragiques) que leur ont décrit les pédiâtres. Parfois même, on n'observera aucun symptôme et l'état anormal ainsi constitué pourra n'être reconnu que par une défaillance de l'organisme à la suite d'une infection ou d'une intoxication.

Il y a donc un intérêt majeur à connaître l'état de la vitamine C dans l'organisme aussi bien dans les carences que dans les hypo et hyper-vitaminoses. Ces recherches permettront peut-être d'aboutir, par l'examen du sang ou des urines à un test sur des états vitaminiques anormaux.

En effet, on a pu récemment préciser la nature du facteur antiscorbutique. L'on sait maintenant que ce facteur, la vitamine C, n'est autre qu'un sucre, l'*acide ascorbique*. On connaît ses propriétés chimiques, on

possède beaucoup de documents sur ses propriétés physiologiques et sur les troubles pathologiques que son absence ou son insuffisance déterminent. On peut le doser chimiquement et le rechercher par les méthodes histologiques. Cependant beaucoup de points touchant son évolution dans l'organisme restent à préciser, c'est à l'étude de cette question que nous nous sommes surtout attachés.

Je remercie vivement Monsieur le Professeur Agrégé Giroud, qui m'a fait l'honneur de me proposer ces recherches. C'est à ses côtés que j'ai pu faire mon initiation dans le domaine de la recherche scientifique et les conseils qu'il m'a prodigués ont rendu ma tâche plus facile.

Je tiens à lui exprimer ici mon admiration et mon respect.

Je remercie également, pour sa collaboration amicale, le Docteur Charles-Philippe Leblond, qui m'a aidé à effectuer ces recherches; je remercie aussi Messieurs Ratsimamanga et Chalopin, Madame Rabinowicz et tous mes amis du laboratoire d'histologie.

PREMIERE PARTIE

La Vitamine C et sa répartition

CHAPITRE PREMIER

NATURE CHIMIQUE ET PROPRIETES

Au cours de ces dernières années, le facteur antiscorbutique ou vitamine C, a fait l'objet d'importants travaux de la part de Bezssonoff, de Rygh et de Szent-Györgyi. Aujourd'hui, grâce, en particulier, aux recherches de Szent-Györgyi, nous connaissons bien sa nature chimique.

L'ACIDE ASCORBIQUE

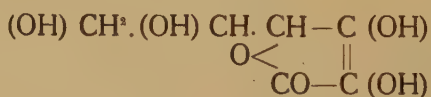
Etudiant à la fois les processus d'oxydation au niveau de la glande surrénale et dans les tissus végétaux, ce savant hongrois reconnut l'existence d'un facteur réducteur commun qui lui parut de première importance. Il put extraire cette substance et procéder à son analyse. Il obtint la formule globale $C^6H^8O^6$. C'est un glucide à 6 atomes de carbone. Il lui a donné d'abord le nom d'*acide hexuronique* et il émit l'hypothèse, qu'il prouva dans la suite, que ce corps est le facteur antiscorbutique. Il lui donna de ce fait le nom d'*acide ascorbique*.

Il prouva en effet que le même corps extrait des

surrénales et des végétaux (Poivron) était doué de propriété antiscorbutique à la fois curative et préventive et que ses variations quantitatives chez l'animal correspondaient bien aux variations du pouvoir antiscorbutique des tissus. Ce corps conservait toutes ses propriétés après une grande purification (5 cristallisations successives). C'était bien la vitamine C, comme l'ont vérifié M^{me} L. Randoin à Paris, Demole à Bâle, Tillmans à Francfort, Von Euler à Stockholm, Zilva et Harris en Angleterre. Tous ont confirmé les résultats de Szent-Györgyi.

Des recherches chimiques considérables permirent l'établissement de la formule de l'acide ascorbique (Michel et Kraft, Euler et Martins, Cox, Hirst et Reynolds) et enfin sa *synthèse* (Reichstein et Güssman, Haworth et Hirst).

Sa formule développée serait :



Physiquement on peut le caractériser par son spectre d'absorption ; en particulier la présence d'une bande caractéristique à 265 m μ en solution neutre ou à 245 m μ en solution acide.

Ses propriétés chimiques sont remarquables. L'acide ascorbique est extrêmement oxydable ; aussi se présente-t-il comme un réducteur énergétique. Il réduit la liqueur de Feyling, le permanganate, le nitrate d'argent même fortement acide.

C'est sur ces propriétés réductrices que sont basées.

les méthodes de dosage chimique et la méthode de détection histochimique.

C'est encore à ces propriétés que sont liées ses fonctions physiologiques. Il peut, en effet, s'oxyder *in vitro* et *in vivo* en donnant naissance à l'acide déhydroascorbique, de formule :



Cette oxydation est réversible. L'acide déhydroascorbique est facilement réduit, en particulier, par le glutathion et retransformé en acide ascorbique. Cette propriété paraît la base de ses fonctions physiologiques.

PROPRIÉTÉS PHYSIOLOGIQUES

Les propriétés chimiques si particulières de l'acide ascorbique doivent être à la base de ses propriétés fonctionnelles et en particulier de son rôle dans les oxydo-réductions de l'organisme.

Nombre de faits ont établi l'importance du rôle de la vitamine C dans les processus respiratoires : la consommation d'oxygène des tissus d'un animal scorbutique, mesurée par la méthode de Wärburg est très diminuée (Höjer). Par adjonction d'acide ascorbique au tissu hépatique d'un animal scorbutique, comme l'a vu Harrisson, la consommation d'oxygène augmente de 5 à 57 %.

L'acide ascorbique active de nombreux ferments :

la catalase, la papaïne, l'érepsine, la cathepsine, l'arginase. Son rôle dans la pigmentogénèse est bien établi (du moins dans certains cas) puisqu'on peut supprimer à volonté la pigmentation des addisoniens en leur donnant de hautes doses de vitamine C (Szént-Györgyi).

Ces multiples propriétés expliquent les conséquences graves que peut entraîner un taux anormal d'acide ascorbique dans l'organisme.

TROUBLES PRODUITS PAR L'ABSENCE DE FACTEUR C
(ACIDE ASCORBIQUE) OU SON INSUFFISANCE
DANS L'ALIMENTATION

L'absence totale ou partielle de vitamine C détermine chez une série d'êtres (homme, singe, cobaye, porc), toute une série d'états particuliers pouvant aller de l'état normal à un état de carence incompatible avec la vie.

Cette évolution dépend à la fois de la *qualité* du régime (quantité de vitamine présente dans le régime) et de sa *durée*.

C'est surtout grâce aux observations de Mouriquand et de son école qu'on a réussi à démêler dans la continuité des faits plusieurs stades fondamentaux.

On peut avec Mouriquand distinguer le stade inapparent (sans manifestation clinique), la précarence (formes frustes), la carence affirmée et enfin le stade incurable.

Le stade inapparent, caractérisé comme son nom

P'indique, par une hypovitaminose sans symptômes cliniques, peut être défini comme nous le verrons plus loin par l'examen chimique et histochimique des organes. (Ce stade dure chez le cobaye au régime environ 10 jours). Mais, même par la clinique, ce stade inapparent peut être dévoilé par des facteurs de révélation tels que par exemple l'extrait thyroïdien ou certaines infections (Mouriquand et ses collaborateurs). En clinique humaine vers la fin au moins de ce stade inapparent, on peut, en étudiant le taux de vitamine des urines, avoir des présomptions sur l'existence de ce stade inapparent.

La précarence est caractérisée par des symptômes frustes difficiles parfois à rechercher. Chez le cobaye au régime carencé, elle s'étend environ du 10^e au 18^e jour et est surtout caractérisée comme l'ont montré Weil et Mouriquand par la douleur à la pression des articulations; chez l'homme, elle se manifeste essentiellement par une fragilité capillaire et une tendance hémorragique, que l'on peut révéler par plusieurs méthodes, telle que la compression du bras par exemple (signe du lacet).

Weil et Mouriquand ont également décrit chez des jeunes soldats soumis à un régime hypovitaminé, des symptômes anémiques guéris par l'ingestion de végétaux frais; enfin, nous avons observé un syndrome purpurique avec douleurs rhumatismales rapidement guéri par une alimentation vitaminée.

La carence affirmée est caractérisée par les symptômes classiques du scorbut : diarrhée et hémorragies

intenses dans le scorbut expérimental (du 18^e au 20^e jour chez le cobaye) ; hématomes péri-articulaires dans la maladie de Barlow ou scorbut de l'enfant, hémorragies intenses et asthénie du scorbut de l'adulte.

Mouriquand distingue enfin, dans cette période de carence affirmée, un stade incurable ou terminal au cours duquel l'administration de vitamine C reste sans effet.

Modifications du terrain dans l'hypovitaminose

L'absence ou l'insuffisance de vitamine C détermine, non seulement les troubles directs, mais peut causer indirectement une série d'accidents..

Diverses recherches ont, en effet, montré que, par la carence, la résistance de l'organisme était diminuée vis-à-vis de l'infection tuberculeuse (Bieling, Mac Conkey et Smith, Mouriquand, Basu), des infections dues au pneumocoque (Wämoscher), au staphylocoque (Findlay), au stéptocoque (Jackson et Moody), au colibacille, au charbon, au pyocyanique (Mouriquand, Rochaix et Michel) ; enfin il y aurait diminution de la résistance à certaines toxines, spécialement la toxine diphtérique (Bieling) et il y a peu de temps, Harde aurait constaté certains faits en faveur du rôle protecteur de la vitamine C contre cette toxine. Récemment même, certains expérimentateurs (Rinehard et Connor) ont avancé que le facteur antiscorbutique jouerait un rôle important dans

la genèse de la maladie de Bouillaud ou rhumatisme articulaire aigu.

On pourrait citer encore de nombreuses répercussions de l'insuffisance en facteur C. Notons seulement pour finir, les troubles de cicatrisation qu'on a maintes fois observés (Miska).

CHAPITRE II

METHODES DE RECHERCHE DE LA VITAMINE C

La mise en évidence de l'acide ascorbique peut être faite par plusieurs méthodes :

- 1° Méthodes biologiques ;
- 2° Méthodes chimiques ;
- 3° Méthode histochimique ;
- 4° Méthodes bio-chimiques.

METHODES BIOLOGIQUES

Chez l'homme, on peut considérer comme relevant de la méthode biologique la recherche de signes de précaréance sur des individus soumis à des régimes divers. On peut employer dans ce but la méthode de Göthlin, celle-ci est basée sur la fragilité vasculaire. On peut, grâce à elle dépister les cas latents de scorbut.

Göthlin apprécie le degré de gravité de l'avitaminose d'après le nombre de pétéchiés que présente un membre soumis pendant 15' à 50 mm. de pression dans la brassière d'un tensiomètre. Dalldorf en 1934, remplace la brassière par des ventouses ordinaires.

D'après Dalldorf, 35 à 66 % d'individus de conditions sociales modestes présenteraient ainsi des lésions préscorbutiques ; d'après Göthlin, il y en aurait chez 18 % des écoliers suédois.

Chez les animaux de laboratoire, deux procédés sont utilisés :

A) *Méthode préventive, dite de Hog*. La plus sûre, si l'on a bien soin de choisir les cobayes qui doivent être sains et jeunes. Elle consiste à mettre les cobayes au régime privé de facteur C et y ajouter en même temps la substance dont on veut éprouver le pouvoir antiscorbutique.

Si cette substance renferme le facteur antiscorbutique en quantité suffisante, le scorbut n'apparaît pas.

B) *La méthode curative de Harris et Milles* consiste à donner à l'animal, mis au régime avitaminé au moment de la chute du poids, la substance à éprouver. Si elle est antiscorbutique, la courbe du poids doit se relever ; dans le cas contraire, la courbe reste stationnaire ou continue à descendre. Cette façon de faire, quoiqu'étant moins sûre que la méthode préventive, est la plus employée à cause de la rapidité des résultats.

Ces méthodes sont habituellement contrôlées par le test de Höjer qui consiste à étudier les dents des animaux sur des coupes histologiques ; la dégénérescence des odontoblastes est un signe précoce et fidèle survenant longtemps avant les signes du scorbut (Ket et Elphick).

MÉTHODES CHIMIQUES .

Plusieurs méthodes chimiques de mise en évidence ou de dosage de l'acide ascorbique ont été imaginées.

Les plus employées sont la méthode de Tillmans et celle de Bezssonoff.

Méthode de Tillmans. Cette méthode utilise la décoloration du 2-6 dichlorophénolindophénol, sous l'action du pouvoir réducteur de la vitamine C.

Détails de la technique. On extrait l'acide ascorbique en broyant le corps à étudier sous une nappe d'acide trichloracétique au 1/10.

Le dosage s'effectue par le 2-6 dichlorophénolindophénol (solution N. 10-3) après avoir ramené le pH de la solution à 2,5, par quelques gouttes d'acide acétique fort : d'après Harris et Ray). Au cas où le filtrat serait coloré, Bezssonoff recommande l'emploi de son déféquant A. P. On verse le 2-6 dichlorophénolindophénol sur une quantité connue de filtrat et on arrête quand le premier virage au rose (30'') s'effectue.

Le colorant doit être préalablement testé, soit sur une solution d'acide ascorbique cristallisé, soit sur du jus de citron dont on connaît la valeur en acide ascor-

N

bique par dosage avec une solution — d'iode.

10

Cette méthode permet le dosage de la forme oxydée de l'acide ascorbique après contact avec H^2S qui

la réduit, on dose sur la solution débarrassée d'H²S par un courant d'azote.

Critiques portées à la méthode : Bezssonoff et Delire montrent que la concentration de corps à étudier modifie les résultats du dosage. D'autre part, Mottern, Nelson et Walker voient que le tannin, l'acide tannique, le glucose, le resorcinol et le glutathion n'agissent pas sur l'indicateur, par contre le pyrogallol, le réducteur de Von Euler les décolorent. En opérant à pH 2,5 comme l'ont indiqué Harris et Ray, la méthode est relativement spécifique.

En pratique les erreurs calculées par King atteignent en moyenne 3 %.

Méthode de Bezssonoff. C'est une méthode colorimétrique. On utilise le réactif B qui donne une coloration violette en présence d'acide ascorbique (acide monomolybdo phosphotungstique).

La base du dosage consiste en des comparaisons colorimétriques, en se servant d'étalons préparés d'avance avec de l'hydroquinol. Le liquide ou l'extrait trichloroacétique (quantité 10 cm³) est préalablement soumis pendant 3' à 6 cc. du déféquant A. P. dont la formule est la suivante :

Acétate neutre de Pb.	100 gr.
Acide acétique glacial	110 gr.
Eau distillée	600 gr.

On ramène le pH aux environs de 3,5 et on complète au litre par de l'eau distillée.

On ajoute ensuite 4 cc. d'une solution à base de sulfate de soude.

Sulfate de soude cristallisé ($\text{SO}^+\text{Na}^2+10 \text{H}^2\text{O}$) 200 gr.

Eau distillée : q. s. p. 1 litre.

On attend 3' et on filtre.

Sur 10 cc. de filtrat on ajoute 2 gouttes de réactif B. Suivant la richesse du filtrat en vitamine C la solution se colore plus ou moins intensément en violet.

Le calcul de la quantité se fait facilement par comparaison aux étalons (solutions d'hydroquinol à concentrations variées) en tenant compte des dilutions effectuées et en adoptant comme poids moléculaire de l'acide ascorbique le nombre 176.

Avec cette méthode, seules les formes réduites donnent la réaction, tandis que la forme oxydée n'est pas directement observable.

La lecture des résultats se fait en comparant les solutions à étudier avec des étalons de solution d'hydroquinol. La méthode de Bezssonoff est assez spécifique et en même temps assez sensible, car elle permet de déceler la présence de 0 mgr. 002 d'acide ascorbique par cm^3 dans une solution.

D'autre part, il y a intérêt à faire la lecture de la réaction immédiatement après avoir ajouté le réactif B, car sur des solutions qui contiennent du tannin commercial en quantité appréciable, on voit se produire 2' à 5' après avoir ajouté le réactif B, une coloration violette et qui fausserait les résultats. Si l'on fait la réaction sur des plantes riches en tannin et pauvres en acide ascorbique, là, les résultats de la

réaction de Bezssonoff ne semblent pas très précis car il y a confusion de couleurs, malgré l'absence d'excès de réactif B. Pour cela, on pourrait éliminer le tannin en employant le déféquant A. P. de Bezssonoff deux fois de suite.

En outre il est très difficile de lire des résultats à la lumière artificielle. A part ces quelques remarques et si l'on prend des précautions nécessaires, la méthode de Bezssonoff est excellente pour la détermination de la vitamine C.

Son emploi nécessite une certaine habitude aussi son utilisation a-t-elle donné naissance à certaines controverses.

MÉTHODE D'EEKELEN (VAN), EMMERIE

Recherche de la forme oxydée de l'acide ascorbique:

Après avoir ramené exactement le pH de la solution à doser à 7 par du carbonate de calcium (en contrôlant par le virage au lilas du papier rose congo), on ajoute 5 cc. d'acétate neutre de mercure à 20 % pour 20 cc. de filtrat.

On fait passer ensuite un courant de H^2S pendant 10'-30', après avoir filtré, on laisse reposer pendant 12 h. en ayant soin de bien boucher le flacon qui contient le filtrat.

On chasse ensuite le gaz sulfuré par un courant d'azote sous pression jusqu'à ce que le papier au sous-acétate de Pb ne vire plus au noir.

On dose comme d'habitude en ramenant le pH aux environs de 3 par de l'acide trichloracétique à 10 %.

Il est à remarquer cependant, d'après nos nombreux essais, que l'on n'arrive pas à récupérer la totalité de l'acide ascorbique contenue dans la solution à étudier car en opérant sur de l'acide ascorbique pur, nous avons constaté une perte de 10 % environ.

MÉTHODE HISTOCHIMIQUE

La vitamine C, peut enfin, être mise en évidence histochimiquement. Cette méthode histochimique, due à Giroud et Leblond, est basée sur la propriété réductrice de l'acide ascorbique sur le nitrate d'argent acide. Le réactif employé est une solution de nitrate d'argent à 10 % acidifié par 1 % d'acide acétique et présentant un pH voisin de 4. Le nitrate ainsi préparé n'est réduit ni par les sucres ni par les phénols, tels que l'adrénaline et tannin (tout au moins dans les conditions où l'on doit opérer, c'est-à-dire à froid, à l'obscurité et dans des temps très courts), non plus par les substances à fonction sulfhydryle comme le chlorhydrate de cystéine et le glutathion.

Ce réactif peut être employé de deux façons :

1° *Par injection intravasculaire* : Après avoir saigné l'animal, on lave ses vaisseaux avec une solution de levulose à 50 %, ensuite on injecte rapidement le nitrate d'argent, en le laissant en contact pendant une dizaine de minutes, après ce temps on lave une pre-

mière fois à l'eau distillée, afin d'éliminer le nitrate non réduit. Par l'hyposulfite de soude on effectue une élimination complémentaire et pour finir, un deuxième lavage à l'eau.

2° *Injection interstitielle* : En principe elle comprend les mêmes temps, mais ils sont difficiles à réaliser. Les organes ainsi traités sont recueillis, soit dans l'alcool à 95°, pour être montés ultérieurement à la paraffine, soit coupés directement à la congélation. Ces opérations doivent être faites, sinon à l'obscurité, du moins à la lumière atténuée.

Les tissus et cellules traités de cette façon se comportent différemment, suivant leur richesse en acide ascorbique. La présence de vitamine C se manifeste par l'apparition des grains noirs d'argent réduit.

La spécificité de la réaction est démontrée par les faits suivants :

1° Le lavage des tissus par un solvant de l'acide ascorbique, comme l'alcool méthylique supprime la réaction, par contre le liquide contenant l'acide ascorbique peut déterminer en d'autres points des réactions secondaires.

2° Les oxydants, tels que l'iode font disparaître la réaction.

3° Fait capital, la réaction diminue progressivement chez l'animal soumis à un régime privé de facteur C (régime de M^{me} L. Randoïn et Lopez Lomba). A partir du 5^e jour la réaction devient faible, pour disparaître complètement vers le 10^e jour ; ces don-

nées corresponndent à la disparition de l'acide ascorbique, mesuré par les méthodes biologiques comme dans la surrénale (Harris et Ray) ou le foie (Parson et Hutton) en faisant l'épreuve contraire, c'est-à-dire si on donne à nouveau le facteur C., la réduction des nitrates réapparaît en quelques heures.

Enfin les résultats de la réaction se superposent dans l'ensemble à ceux donnés par l'analyse chimique et biologique.

La méthode histochimique précise la répartition de l'acide ascorbique dans l'intimité des tissus et jusque dans la cellule. Avec cette réaction, on constate que les divers organes et tissus se comportent différemment. Quelques-unes ne donnent aucune réaction, d'autres peuvent en présenter de légères, enfin quatre tissus surtout donnent une réaction très forte (la cortico-surrénale, le tissu interstitiel du testicule, le corps jaune de l'ovaire, la partie glandulaire de l'hypophyse). Là, il est facile de voir que la réaction de la vitamine C est localisée au niveau du cytoplasme. Le noyau reste toujours incolore. Le protoplasme proprement dit est plus ou moins rempli de grains d'argent métallique. Il semble même que cette réaction est encore plus localisée puisque souvent on constate une imprégnation des organites cellulaires tels que l'appareil de Golgi ou le chondriome.

MÉTHODE BIOCHIMIQUE ET BIO-HISTOCHIMIQUE

On peut utiliser des méthodes combinées par union de la méthode biologique à la méthode chimique ou histochimique.

Pour cela on soumet l'animal au régime Randoin, additionné de la matière dont on veut éprouver la valeur antiscorbutique.

On observe donc l'évolution pondérale et fonctionnelle de l'animal. On note également l'apparition des divers signes pathologiques (douleurs épiphysaires, et lésions hémorragiques périarticulaires).

Au moment choisi on sacrifie l'animal et l'on dose la quantité de vitamine C, contenue dans les différents organes; par la méthode de Tillmans ou de Bezsonoff. Ou bien l'on injecte à l'animal selon la technique de Giroud et Leblond du nitrate d'argent acide et l'on observe la coloration plus ou moins noire des organes ou des tissus, ce qui permet une estimation intéressante de leur teneur en acide ascorbique.

Les résultats obtenus, en particulier par le dosage au Tillmans d'animaux expérimentés, nous permet des résultats extrêmement précis.

CHAPITRE III

REPARTITION DE LA VITAMINE C DANS L'ORGANISME

L'ensemble des méthodes biologiques, chimiques et histochimiques donne des résultats concordants. Ainsi peut-on avec précision connaître la répartition de la vitamine C dans l'organisme.

Organes ou tissus pauvres

Il y a d'abord des tissus ou organes très pauvres en vitamine C. Tels sont les tissus conjonctifs et leurs dérivés. Le derme (cheval) contient 0 mgr. 02 d'acide ascorbique, par gramme de tissu frais (1). Le tissu adipeux (cheval) ne contient que 0 mgr. 01. Les muscles également sont fort pauvres (0 mgr. 01 à 0 mgr. 04 par gramme de tissus frais).

Voici, par exemple, quelques chiffres :

Muscles rouges du pigeon 0 mgr. 03

Muscles rouges du porc 0 mgr. 02

(1) Tous les taux d'acide ascorbique de ce mémoire sont donnés par gramme de matière fraîche ou par centimètres cubes de liquide (sang, urine).

Le sang contient de l'acide ascorbique en petite quantité sous forme réduite, 0 mgr. 02, et au moins autant sous forme oxydée, soit, en tout, environ 0 mgr. 05. Avec la méthode histochimique, la présence d'acide ascorbique s'y manifeste par la réduction du nitrate sur les globules rouges, qui noircissent, plus ou moins, ainsi que sur la paroi des vaisseaux et spécialement les petits.

Organes ou tissus intermédiaires

Le pancréas, avec ses ilots, la thyroïde, la parathyroïde, le thymus contiennent plus de vitamine C (0 mgr. 20 à 0 mgr. 30).

Le système nerveux, la peau (le corps muqueux, 0 mgr. 10) contiennent également des quantités appréciables d'acide ascorbique. Le système nerveux central (bœuf) renferme, par exemple, 0 mgr. 27 (substance blanche), 0 mgr. 45 (substance grise).

Le foie et l'intestin grêle en renferment également, mais les variations de leur taux dépendent directement de l'absorption de cette vitamine. Le foie de cobaye contient couramment de 0 mgr. 20 à 0 mgr. 80. L'intestin grêle est toujours plus riche que l'estomac et le gros intestin. Voici à titre d'exemple le cas d'un cobaye: estomac (0 mgr. 05), intestin grêle (0 mgr. 25), gros intestin (0 mgr. 12).

Le rein en contient de petites quantités et naturellement ces quantités varient considérablement, en fonction de l'élimination.

Organes ou tissus riches

Il y a enfin des tissus ou organes extrêmement riches en vitamine C. C'est, d'abord, la surrénale et surtout la cortico-surrénale (Harris et Ray, Euler et Klussman, Svirbely, Giroud et Leblond). Il y a, en effet, dans le tissu cortical 1 mgr. à 2 mgr. par gramme de tissu frais. La médullo-surrénale en contient environ un tiers en moins. Le corps jaune de l'ovaire est également riche (Euler, Hussak, Giroud et Leblond (1 mgr. à 1 mgr. 50). Le tissu interstitiel du testicule donne des réactions histochimiques tout à fait comparables (Giroud et Leblond) et doit également être rapproché des tissus précédents, au point de vue vitamine C, comme d'ailleurs à bien d'autres points de vue. Enfin, la partie glandulaire de l'hypophyse (Gough et Zilva, von Euler) est à ranger parmi les organes riches. D'après Giroud, Leblond et Ratsimamanga, le lobe nerveux ne contiendrait, chez le bœuf que 0 mgr. 55, tandis que le lobe antérieur contiendrait 1 mgr. 65 et le lobe intermédiaire 2 mgr. 01.

II^e PARTIE

Evolution de la Vitamine C dans l'organisme

CHAPITRE PREMIER

VARIATIONS DU TAUX DE VITAMINE C DES ORGANES

Le taux de la vitamine C dans l'organisme dépend de toute une série de facteurs dont certains sont dès maintenant indiscutables.

Il dépend de la valeur des phénomènes de *synthèse* (acide ascorbique endogène), de la quantité introduite par l'*alimentation* (acide ascorbique exogène), de l'importance de la *destruction* et de son *élimination*, en particulier par le rein.

SYNTHÈSE

La synthèse existe chez la plupart des animaux : pour eux l'acide ascorbique exogène n'est donc pas indispensable. Le fait a été démontré sur de nombreuses espèces (rat, bœuf, chat, etc...).

Mac Collum et Pitz avaient dès 1917, observé qu'un régime de céréales et d'eau ne provoquait pas chez le rat, les troubles qu'il amenait chez le cobaye.

Cependant les organes des espèces insensibles au scorbut, contiennent de la vitamine C comme ceux des animaux normaux. Parsons, Lepkowski et Nelson

montrèrent même, que le foie des rats recevant un régime privé de facteur C, garde une valeur antiscorbutique pour le cobaye, et continue donc à contenir ce facteur.

Depuis lors, un certain nombre de faits sont venus prouver que certains animaux peuvent réaliser la synthèse de la vitamine C.

C'est Hauge et Carrick, en 1926, qui ont montré les premiers, d'une façon indiscutable, une synthèse de vitamine C dans le règne animal.

On sait que les œufs ne contiennent pas de vitamine C ; or, ils virent que les foies de poulets de cinq semaines, mis au régime scorbutique dès leur sortie de l'œuf (1) avaient un pouvoir antiscorbutique net. Cela prouvait donc, qu'au cours du développement du poulet, la vitamine était synthétisée dans l'organisme embryonnaire.

Ray vérifia ces faits par la méthode chimique en dosant de 2 en 2 jours l'acide ascorbique dans des œufs mis à couvrir ; voici ses résultats (en milligramme d'acide ascorbique par gramme).

1^{er} jour: 0.

4^e jour: 0,124 dans l'embryon.

4^e jour: 0 dans le blanc et le jaune.

8^e jour: 0,160 dans l'embryon.

Foie de poulet naissant: 0,260 par gramme.

(1) Les poules qui produisirent les œufs utilisés par ces auteurs, avaient été par surcroît de prudence mises elles-mêmes au régime scorbutigène.

Ces faits prouvent donc que la synthèse de la vitamine peut être faite aussi bien par les tissus animaux que par les tissus végétaux.

Giroud et Leblond ont vérifié ces faits avec leur méthode histo-chimique. Des rats à la 4^e, à la 6^e et à la 12^e semaine de régime carencé, ont donné avec le nitrate d'argent des résultats habituels de l'animal recevant le facteur C. Les réactions apparaissent dans les mêmes organes et avec une même intensité que chez l'animal au régime normal. Même fait sur le chat (30 jours après le début de l'avitaminose) et sur de jeunes rats, nés 6 semaines après la mise en avitaminose des parents. On voit donc que certains animaux, malgré un régime avitaminé, ont encore de la vitamine C dans leurs organes même 12 semaines après le début de la mise au régime. Ils synthétisent donc l'acide ascorbique. Chez les êtres carencés (homme, singe, cobaye, porc) cette synthèse n'existe pas ou est très insuffisante.

APPORT ALIMENTAIRE

Les êtres qui ne synthétisent pas la vitamine sont sous l'entière dépendance de leur régime. C'est surtout l'apport alimentaire qui détermine le taux de vitamine C de leurs organes.

C'est ce qui apparaît nettement si l'on supprime la vitamine C de l'alimentation.

Baisse du taux de vitamine au cours de l'avitaminose :

Chez l'animal carencé, on admet que les surrénales ne contiennent plus de vitamine C ; Harris et Ray ont montré que les surrénales du cobaye avitaminé n'ont aucun pouvoir antiscorbutique et cela même à la dose de 1 gr. par jour (alors que 0 gr. 50 de surrénale de cobaye normal se montre déjà actif). Galvao et Cardoso ont fait des constatations analogues ; ils ont vu que 2 gr. 5 de surrénale d'animal scorbutique (4 surrénales par jour) n'empêchait pas le développement de l'avitaminose. Le dosage chimique montre dans ce cas une diminution du taux de vitamine C dans la surrénale, mais non une disparition totale (Harris et Ray, von Euler et Klusmann, Svirbeley).

Svirbeley voit le taux d'acide ascorbique passer de 1 mgr. 24 par gramme chez le cobaye normal à 0 mgr. 07 chez le cobaye scorbutique ; von Euler observe seulement une différence de 0 mgr. 80 environ (normal) à 0 mgr. 20 environ chez l'animal carencé. Il faut remarquer cependant que cette méthode chimique n'étant pas strictement spécifique, peut donner des chiffres peut-être trop élevés.

La coloration par le nitrate d'argent disparaît complètement comme l'ont montré les recherches macroscopiques de Harris et Ray, Quick, Hamilton, Siehrs et Miller, Galvac et Cardoso ; tous ont vu que les surrénales d'animal scorbutique ne noircissent plus par l'action du nitrate d'argent. Vraisemblablement, il ne s'agit pas d'une absence complète d'acide ascor-

bique, mais d'un taux insuffisant pour assurer la réaction.

Pour Harris et Ray, le pouvoir réducteur disparaît le 8^e jour après le début de la mise au régime, Siehrs et Miller observent le 2^e jour une diminution du noircissement, puis les jours suivants une disparition progressive de la réaction qui passe du noir au brun, puis au jaune rouge (5^e jour), enfin le 6^e jour on ne note plus qu'une réaction insignifiante. Il résulte donc de ces recherches que 8 jours de régime suffisent pour faire disparaître la réduction du nitrate d'argent par la vitamine C du cortex surrénal. De Garo, par une étude détaillée de l'animal en carence observe une disparition d'acide ascorbique dans les tissus, proportionnelle au degré de l'avitaminose ; il y aurait cependant, d'après lui, une exception pour l'ovaire qui, plus que les autres tissus, s'oppose à la perte en acide ascorbique (même après 24 jours de carence).

Le taux d'acide ascorbique réduit du sang resterait inchangé.

Nous avons étudié le taux d'acide ascorbique dans la carence par la méthode au nitrate d'argent et par les dosages chimiques (les cobayes utilisés étaient mis au régime de M^{me} L. Randoïn et Lopez-Lomba.

Ce régime comprend les éléments suivants :

Farine de haricots blancs (1).....	83
Levure de bière.....	3

(1) Nous remercions la Maison Heudebert qui nous a fourni les éléments de base pour la confection de nos régimes.

Graisse de beurre.....	5,5
Lactate de chaux.....	5
Chlorure de sodium.....	1,5
Papier filtre sans cendres.....	2 gr.

Après cuisson de la farine de haricots avec le papier filtre et le lactate de chaux, on incorpore au gâteau ainsi obtenu les autres éléments.

Ce régime est bien équilibré, puisque la farine de haricot apporte les acides aminés nécessaires (sauf le tryptophane) et les éléments minéraux suivants : P, K, Mg, Fe, Zn, F, B, As et I.

Le lactate de chaux et le chlorure de sodium fournissent les ions Cl, Na et Ca.

La levure de bière apporte le tryptophane et les vitamines B, les autres vitamines sont procurées par la graisse de beurre (vitamine A et une faible quantité de vitamine D).

Nous avons examiné avec Giroud, Leblond et Ratsimamanga les organes de cobayes tués à différentes périodes de l'avitaminose, voici des résultats donnés par les dosages en série, effectués suivant la méthode de Tillmans (chiffres moyens) :

	Surrenale	Testicule	Rein
Cobaye normal	0,90	0,30	0,10
Après 24 heures de régime	0,62	0,25	—
Après 2 jours	0,51	0,20	—
4 jours	0,23	0,12	0,03
7 jours	0,13	0,12	0,02
10 jours	0,05	0,06	0,03
12 jours	0,035	0,08	0,02
20 jours	0,05	0,06	0,01
22 jours	0,05	0,06	0,01

Les résultats figurés dans la courbe ci-jointe (fig. 1) montrent que, dès la mise au régime il y a une chute rapide des valeurs de l'acide ascorbique, au bout de 24 heures on observe déjà une diminution d'environ 25 %, après 48 heures, de 50 % du taux d'acide ascorbique.

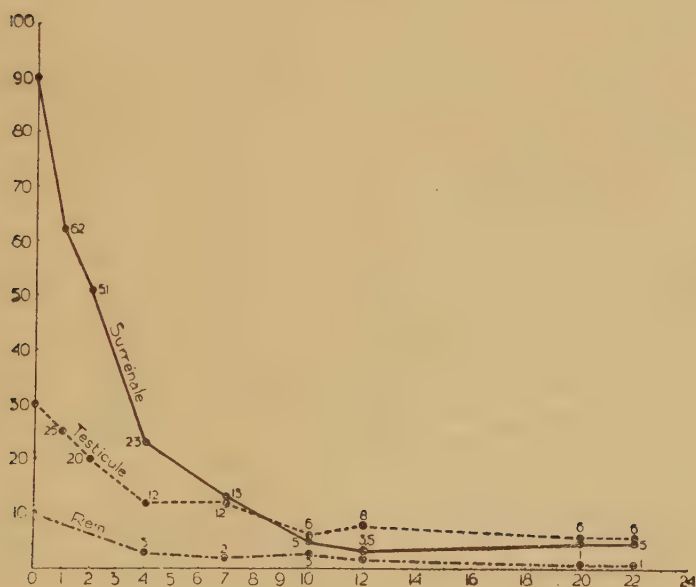


Fig. 1. — Courbe montrant la diminution du taux de l'acide ascorbique dans les organes de cobayes normaux soumis à un régime carencé (régime de M^{me} Randoin et Lopez-Lomba).

En abscisse les jours d'avitaminose.

En ordonnée le taux d'acide ascorbique en milligrammes par gramme de tissu frais. Méthode de Tillmans. On constate après une chute rapide l'établissement d'un plateau à partir du 10^e jour. On remarque que la chute des organes riches (surrénale) est particulièrement rapide.

On voit donc avec quelle rapidité peut s'installer dans l'organisme un état de déficience, dans lequel, sans symptômes alarmants, il y a cependant un manque de vitamine, qui correspond chimiquement au stade inapparent décrit par Mouriquand. Après une baisse brusque jusqu'au 4^e ou 5^e jour, la courbe se ralentit progressivement pour s'arrêter à partir du 10^e jour à un taux pratiquement fixe et assez proche de 0.

La vitesse de chute n'est pas la même pour tous les organes.

La courbe permet de bien voir que la chute du taux de vitamine d'un organe est d'autant plus rapide que le taux originel est plus élevé. C'est ainsi que pour un organe riche comme la surrénale, la baisse est extrêmement rapide. Pour un temps donné, le taux diminue de moitié par exemple, tandis qu'il ne diminue que d'un tiers pour le testicule, et beaucoup moins encore pour le rein.

Si l'on étudie en série par la méthode au nitrate d'argent des cobayes mis au régime, on voit la réaction diminuer et disparaître extrêmement vite, le 7^e jour, elle a à peu près complètement disparu.

A partir du 10^e jour, comme on vient de le dire, il existe dans les organes un taux constant assez bas, mesuré par la méthode de Tillmans, qui semble se maintenir jusqu'à la mort. Naturellement dans ces mêmes conditions, la réaction au nitrate d'argent reste négative.

La signification du léger pouvoir réducteur sur le dichlorophénolindophénol qui persiste à cette période (0,01-0,05 par gramme dans la surrénale) peut être discutée. Il pourrait s'agir soit de substances actives sur le réactif autres que l'acide ascorbique, cependant il peut aussi s'agir d'une faible quantité d'acide ascorbique qui serait synthétisée par le cobaye, mais qui serait toutefois insuffisante pour lui assurer la vie.

Ces faits démontrent donc qu'en quelques jours les réserves sont épuisées chez le cobaye ; ils prouvent que *la teneur en acide ascorbique de l'organisme* (qui ne synthétise pas l'acide ascorbique) *est très instable.*

Influence de l'absorption de vitamine :

L'alimentation constitue, surtout pour l'animal qui ne synthétise pas l'acide ascorbique, le facteur le plus important de son équilibre vitaminique.

Presque tous les aliments contiennent de la vitamine C, mais en quantités très variables. En général, les aliments d'origine animale sont peu riches en acide ascorbique. La viande, en effet, constitue à cet égard une alimentation assez pauvre. Le muscle strié ne contient guère que 0 mgr. 02 à 0 mgr. 04 de vitamine C par gramme. Le foie par contre constitue une bonne source de cette substance (0 mgr. 15 à 0 mgr. 40) Les centres nerveux (cervelles) contiendraient de 0 mgr. 10 à 0 mgr. 15 de vitamine C. Les

poissons seraient également une source utile du facteur antiscorbutique et l'on cite le cas des populations, qui s'en nourrissent exclusivement et ne seraient pas atteintes de scorbut. Les coquillages (huîtres, moules) sont des sources appréciables d'acide ascorbique (M^{me} Randoin, Rakoto Ratsimamanga).

Les aliments d'origine végétale sont beaucoup plus importants à ce point de vue. De tout temps on savait que l'emploi des végétaux frais et *surtout des fruits, empêche l'éclosion du scorbut*. Tout dernièrement (Giroud, Ratsimamanga et Leblond) ont établi l'existence d'un parallélisme remarquable entre l'acide ascorbique et la chlorophylle.

Les parties chlorophylliennes des plantes (feuilles surtout) contiennent toujours beaucoup plus d'acide ascorbique que les parties blanches de ces mêmes plantes (racines, tubercules, fleurs). Les parties vertes constituent une source environ dix fois plus riche en vitamine (0 mgr. 50 à 3 mgr. 50 par gramme) que les parties blanches.

Il existe également, une relation générale entre la présence de l'acide ascorbique et celles des caroténoïdes en particulier dans les fruits, comme l'ont montré tout spécialement les mêmes auteurs (Giroud, Ratsimamanga, Leblond). Les fruits riches en caroténoïdes (orange, tomate, piment, etc.), le sont aussi en acide ascorbique ; il en résulte donc que l'usage dans l'alimentation de ces fruits assure une double provision de vitamines (A et C).

Il est facile de constater le rôle joué par des types divers de nourriture. Voici quelques résultats observés sur le cobaye par Giroud, Leblond, Ratsimamanga et M^{me} Rabinowicz avec des nourritures de plus en plus riches en acide ascorbique. Les animaux ont été dosés organe par organe, après un temps de régime suffisamment long pour permettre une stabilisation des valeurs.

TABLEAU I

I. — COBAYES APRÈS 10 JOURS DE RÉGIME RAUDOIN
(sans vitamines C)

Surrénale	Foie	Rein	Testicule
0,06	0,04	0,01	0,05
0,05	0,04	0,01	0,05
0,04		0,01	0,04
0,06	0,05	0,01	0,06
0,05		0,03	
0,02	0,02	0,03	0,04
Moyenne: 0,04	0,03	0,01	0,04

II. — COBAYES NOURRIS EN PARTIE A LA RACINE
DE BETTERAVE PENDANT PLUSIEURS SEMAINES

Surrénale	Foie	Rein	Testicule
0,31	0,09	0,06	0,07
0,20	0,05	0,04	0,08
0,23	0,09	0,03	0,07
0,14	0,05	0,06	0,16
0,20	0,08	0,06	0,07
0,26	0,04	0,05	0,06
0,10	0,03	×	0,06
0,13	0,05	×	×
Moyenne: 0,19	0,05	0,05	0,09

III. — COBAYES NOURRIS EN PARTIE AUX TROGNONS
DE CHOUX-FLEURS PENDANT PLUSIEURS SEMAINES

Surrénale	Foie	Rein	Testicule
—	—	—	—
0,70	×	×	×
0,82	0,23	0,07	0,24
0,80	×	0,07	0,15
0,89	0,22	0,09	×
1,09	×	0,08	×
0,91	×	×	×
—	—	—	—
Moyenne: 0,86	0,22	0,07	0,19

IV. — COBAYES NOURRIS EN PARTIE A LA FEUILLE
DE CHOUX-FLEURS PENDANT PLUSIEURS SEMAINES

Surrénale	Foie	Rein	Testicule
—	—	—	—
2,41	0,46	0,22	♀
1,13	0,22	0,13	0,26
3,75	0,60	0,21	0,56
2,72	0,54	0,21	0,55
2,27	0,46	0,24	♀
2,25	0,49	0,13	0,50
2,10	0,55	0,19	Castré
1,56	0,64	0,28	×
2,11	0,84	0,17	♀
—	—	—	—
Moyenne: 2,25	0,53	0,19	0,46

Avec le régime de M^{me} L. Randoïn complètement dépourvu de vitamine, les animaux sont amenés, comme on l'a vu antérieurement, à un niveau extrêmement bas et qui paraît stable au moins pendant un certain temps. A partir du 12^e jour, en effet, tous les organes sont très pauvres en vitamine; les organes riches comme la surrénale n'en contiennent plus que de très petites quantités (0 mgr. 05-0 mgr. 07)

souvent même ils semblent devenir plus pauvres que d'autres organes. On peut même se demander si ces faibles valeurs données par le Tillmans correspondent bien à l'acide ascorbique.

Avec un régime ne comprenant comme source de vitamine que des parties végétales sans chlorophylle (racines de betterave), les cobayes survivent, mais présentent assez fréquemment des accidents de scorbut fruste. Le taux de tous les organes est bas, mais varie nettement avec chacun d'eux. Ainsi la surrénale apparaît franchement un peu moins pauvre que les autres organes.

Des cobayes, nourris avec du son et des trognons de choux-fleurs, paraissent en excellent état et donnent des chiffres d'acide ascorbique qui, par comparaison avec des animaux synthétisant l'acide ascorbique, peuvent être considérés comme normaux. La surrénale de ces animaux contient environ 1 mgr. par gramme de tissu frais. Le foie ne contient que 0 mgr. 22, ce qui est déjà important.

Enfin des cobayes nourris avec du son et des feuilles de choux-fleurs (régime au moins deux fois plus riche en acide ascorbique) présentent des valeurs encore plus élevées. La surrénale contient plus de 2 mgr. et le foie plus de 0 mgr. 50 d'acide ascorbique. Ces valeurs paraissent être, comme on le verra plus loin, des valeurs maximas.

Ces faits prouvent chez *l'animal carençable l'importance fondamentale de l'alimentation.*

Sans vitamine C, c'est la carence absolue avec terminaison par la mort, mais des régimes ne compor-

tant que de très petites quantités de vitamine se comportent de même. Au-dessous de 2 mgr. d'acide ascorbique par kilog., ces régimes sont insuffisants pour le cobaye. Les valeurs très basses en vitamine C des tissus qui s'établissent alors (0 mgr. 05 dans la surrénale au Tillmans) ne sont pas compatibles avec la vie (carence chimique).

Avec des quantités supérieures dans l'alimentation, les valeurs des tissus sont encore basses.

La survie est possible, mais il y a des troubles divers : formes frustes du scorbut, jusqu'à 0 mgr. 30 pour la surrénale (précarence chimique).

Avec des quantités encore supérieures, l'organisme se rapproche davantage des valeurs normales ; il n'y a plus de signes pathologiques apparents. Cet état de déficience chimique, dans lequel les valeurs chimiques normales ne sont pas encore atteintes correspond en grande partie à l'état inapparent de Mouriquand.

D'après ce que l'on vient de voir, il y aurait intérêt à préciser exactement quelles sont les doses journalières d'acide ascorbique qui doivent se trouver dans l'alimentation tant humaine qu'animale. Les auteurs ont donné des chiffres assez différents.

Pour Szent-Györgyi il suffirait de 3 mgr. 3 d'acide ascorbique par jour et par kilog. de cobaye. D'après Bezssonoff il faudrait 7 cm³ de jus d'orange, soit environ 4 mgr. 50, ce qui fait 1 mgr. 35 par cobaye de 300 gr. Quelques auteurs (Lund, Spur et Fridericca) pensent qu'on peut empêcher certaines lésions.

dentaires avec 0 mgr. 70, d'autres pensent que 0 mgr. 50 sont encore suffisants pour les cobayes. D'après nos observations, il semble bien, en effet, que ces doses permettent la survie mais en tout cas elles sont insuffisantes pour empêcher l'apparition de toute une série de troubles scorbutiques. Pour l'homme, dont les besoins paraissent moindres (environ trois fois moins), d'après Bezssonoff il suffirait de 1 mgr. 2 par kilog. (70 mgr. environ pour un adulte). Ces doses paraissent insuffisantes pour éviter toute lésion scorbutique. Ainsi, par exemple, nous avons observé des lésions scorbutiques indiscutables chez des cobayes recevant environ 5 mgr. et 10 mgr. d'acide ascorbique par kilog. dans leur nourriture journalière.

Destruction et élimination

Si l'alimentation est le principal facteur qui agit pour modifier le taux des organes, il n'est pas rare d'observer chez des animaux carençables, chez qui par conséquent les phénomènes de synthèse n'interviennent que peu ou pas, des chiffres différents de vitamine dans les organes, même lorsque le régime renferme la même quantité de vitamine.

Cette variation du taux des organes est un fait important ; nous ignorons la plupart des facteurs qui causent ces *variations individuelles* ; mais il y a des variations que nous avons bien souvent constatées et dont nous connaissons l'origine.

C'est d'abord l'âge de l'individu étudié ; les jeunes

animaux (de 2 mois à 6 mois environ pour le cobaye), bien que plus facilement carençables que les adultes (Mouriquand), renferment plus de vitamine C dans leurs organes que les adultes. Le fait a, en particulier, été montré par Bessey et King.

D'autre part, Van Eekelen et ses collaborateurs ont démontré l'influence de la *fatigue*. Chez le rat, ils ont vu que la fatigue intense déterminait dans la surrénale et le foie une diminution d'acide ascorbique d'environ 50 %.

Enfin signalons que l'élimination de la vitamine C par les urines, sans parler du lait lorsqu'il existe, intervient vraisemblablement dans ces phénomènes. Lorsque l'on fait ingérer des quantités de plus en plus fortes de vitamine, la différence entre la quantité éliminée et la quantité ingérée va en croissant, ce qui montre que la destruction de vitamine augmente aussi avec la quantité ingérée.

Ces diverses influences : *synthèse, apport alimentaire* (sans parler de celles que nous ignorons) déterminent dans les organes et aussi dans les urines un taux donné de vitamine C.

Le TAUX NORMAL d'un animal carençable sera obtenu par absorption d'une façon continue d'un régime riche en acide ascorbique ; il correspondra au taux que l'on trouve normalement chez les animaux qui synthétisent la vitamine C.

CHAPITRE II

FIXATION DE LA VITAMINE C DANS LES TISSUS A LA SUITE D'INJECTIONS

Sous ce mot de fixation, nous entendons la capacité qu'ont les tissus de retenir l'acide ascorbique ingéré ou injecté.

Cette capacité de fixation, qui est bien caractéristique de certains organes, a déjà fait l'objet de certaines recherches. Harris et Ray, 1933, ont montré que par le dosage chimique on ne trouvait pas plus d'acide ascorbique dans les surrénales de cobayes recevant de grandes quantités de vitamine, que chez l'animal normalement nourri. Ces auteurs en concluent qu'il n'y a pas de réserve ou plutôt d'accumulation dans l'organisme.

Giroud et Leblond, en étudiant des cobayes carencés recevant des doses variables de jus d'oranges per os, notaient que la réapparition de la réaction se produisait au niveau du cortex-surrénal trois heures après l'ingestion de 20 cc. de jus d'orange (équivalent à 10 mgr. d'acide ascorbique environ). Dans les trois cas où ce phénomène a été observé, le cortex-surrénal présentait des réactions parcellaires tou-

jours localisées cependant au niveau de la zone réticulée (Leblond).

La réaction au nitrate d'argent d'ailleurs apparaissait d'abord au niveau de l'épithélium intestinal. Mais la fixation de la vitamine à ce niveau fut surtout étudiée par Zilva (1934), qui, par des dosages chimiques, observa que, non seulement l'ingestion, mais aussi l'injection sous-cutanée déterminent une fixation par les cellules intestinales.

Par contre, chez l'animal normal, Giroud et Leblond (1934), comme Harris et Ray, n'ont pas constaté de modification notable dans les réactions histo-chimiques après ingestion de 20 à 60 cc. de jus d'orange en plus du régime normal. Cependant, pour le foie, il semble se manifester une certaine fixation.

De Caro (1934) a étudié le taux d'acide ascorbique dans les organes après l'injection intraveineuse de 25 mgr. de cette substance. Il note une élévation momentanée maxima quelques minutes après l'injection, mais très rapidement, par la suite, le taux des organes commence à baisser et au bout d'une heure il serait revenu au taux normal.

L'auteur signale que l'élévation du taux du sang et du rein est, par rapport au chiffre primitif, beaucoup plus élevé que celle des autres organes (surrénale, foie, ovaire), ce fait s'explique facilement, le sang étant le lieu d'injection et le rein le lieu d'élimination. Par contre, si les injections sont faites chez des animaux scorbutiques, de Caro observe que l'élévation relative du taux des organes en vitamine C

est plus stable et ne disparaît pas au bout d'une heure.

Plus récemment, Jakobsen (1935) reprit ces expériences, il constate que le dépôt de vitamine dans les organes d'animaux carencés s'accroît proportionnellement à la dose fournie, à condition de ne pas dépasser une certaine dose. En donnant des doses plus fortes il n'y aurait plus de fixation. Il étudie cette fixation tant au niveau des organes étudiés par de Caro qu'au niveau de l'intestin, où ses observations confirment celles de Silva.

**

Nous avons étudié l'introduction directe d'acide ascorbique dans la circulation au point de vue fixation, saturation et élimination.

Pour cela nous avons utilisé des animaux présentant déjà un taux stabilisé fixe d'acide ascorbique, grâce à des régimes riches en vitamine C.

Nous nous sommes servis de cobayes identiques pesant 300 gr. environ. Nous avons fait deux séries, l'une sur des cobayes présentant un taux de 1 mgr. par gramme (surrénale), l'autre sur des cobayes présentant un taux de 2 mgr. par gramme (surrénale). Nous avons injecté 50 mgr. d'acide ascorbique en solution dans du sérum physiologique par la veine jugulaire. Cette dose n'est pas toxique, car nous n'avons jamais constaté de troubles à quelque moment que ce fût.

Sur certains de ces animaux, nous avons, on le

verra plus loin, pratiqué à des intervalles réguliers le dosage des urines par la méthode de Tillmans.

D'autres ont été sacrifiés à des temps définis après l'injection et nous avons prélevé les organes principaux: surrénale, foie, rein, et dans certains cas, la musculature, le tube digestif, etc..., et nous les avons dosés selon la méthode de Tillmans (voir chapitre « Recherche de la vitamine C »).

Nous avons effectué ces dosages après 2, 5, 15, 20, 30 minutes, puis 1, 4, 5, 6, 30 et 50 heures après l'injection.

TABLEAU II
FIXATION D'ACIDE ASCORBIQUE.
Cobayes moyennement riches.

		Surrén.	Foie	Rein	Test.	Sang
		—	—	—	—	—
<i>Cobayes normaux.</i>	}	0,70	×	×	×	
		0,82	0,23	0,07	0,24	
		0,80	×	0,07	0,15	
		0,89	0,22	0,09	×	
		1,09	×	0,08	×	
		0,91	×	×	×	
Cobayes normaux injectés de 50 mgms d'acide ascorbique intra-veineux. - Dosés au bout de :	2 minutes.	1,12	0,37	0,90	0,32	0,21
	5 minutes.	1,11	0,35	0,83	0,27	0,10
	10 minutes.	1,37	0,46	1,03	0,46	0,06
	15 minutes.	1,09	0,33	0,86	0,37	0,05
	20 minutes.	1,22	0,53	0,88	♀	0,05
	30 minutes.	1,55	0,52	0,98	♀	0,08
	1 heure....	1,48	0,68	0,49	♀	×
	1 h. 1/2...	1,73	0,75	0,37	♀	0,005
	2 heures ..	1,88	0,79	0,32	♀	0,001
	3 heures...	1,48	0,54	0,27	♀	0,006
	4 heures...	1,31	0,53	0,20	♀	0,006
	5 heures...	0,98	0,56	0,21	♀	0,006

SURRENALE. — Dans la glande surrénale, l'élévation après injection est assez rapide, mais moins rapide que celle du rein, comme nous le verrons.

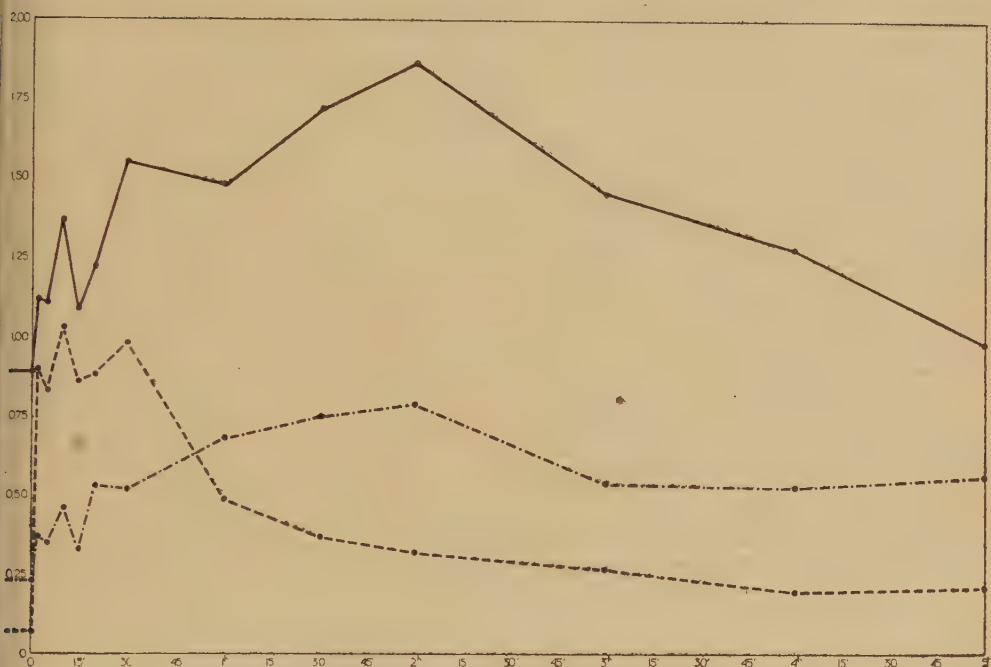


Fig. 2. — Variations du taux de l'acide ascorbique dans divers organes après l'injection de 50 mgr. d'acide ascorbique à des cobayes normaux (1 mgr. de vitamine C dans la surrénale). En ordonnée, le taux d'acide ascorbique en milligramme par gramme de tissu frais. Méthode de Tillmans. Ligne continue = surrénale - petits traits = rein - points = foie. On voit l'augmentation puis la baisse de la vitamine dans les divers organes. On voit que l'augmentation dans le rein est beaucoup plus rapide que dans la surrénale et le foie. On voit également que la baisse y est plus précoce. On voit, enfin, que le foie conserve sa charge plus longtemps que les autres organes.

D'après de Caro, l'élévation est très rapide et tout revient à la normale au bout d'une heure (après des injections de 25 mgr. d'acide ascorbique).

Les dosages que nous avons effectués nous montrent l'élévation moins rapide, puisque nous partons de 0 mgr. 90 (cobaye normal) et après deux minutes le chiffre n'est que de 1 mgr. 12. Pour cet organe, à part quelques oscillations, la fixation augmente progressivement pour atteindre un maxima au bout de deux heures. C'est à ce moment que la descente commence et n'atteindra le taux normal qu'au bout de 5 heures.

Les organes normalement riches sont donc ceux où est atteinte la concentration la plus élevée, mais ce phénomène est instable.

SANG. — Naturellement, l'introduction de l'acide ascorbique par voie veineuse détermine une augmentation brusque de cette substance dans le sang. C'est ce qu'a vu de Caro, c'est ce que nous constatons nous-mêmes. Nos premiers dosages effectués au bout de 2' donnent un chiffre de 0 mgr. 21 par cc. Ces chiffres doivent déjà correspondre à la baisse rapide qui se produit de suite : aussi nous ne représentons que la partie de la chute située après 2' sur notre courbe.

Cette chute est due à la fixation rapide par les divers organes et la rapide élimination rénale qui s'effectue.

Simultanément il se produit aussi dans le sang un autre phénomène : c'est le processus d'oxydation en acide déhydroascorbique. En effectuant la régénéra-

tion par H^2S (voir méthode d'Eekelen et Emmerie), on constate, en effet, qu'il y avait dans le sang de fortes quantités sous forme oxydée.

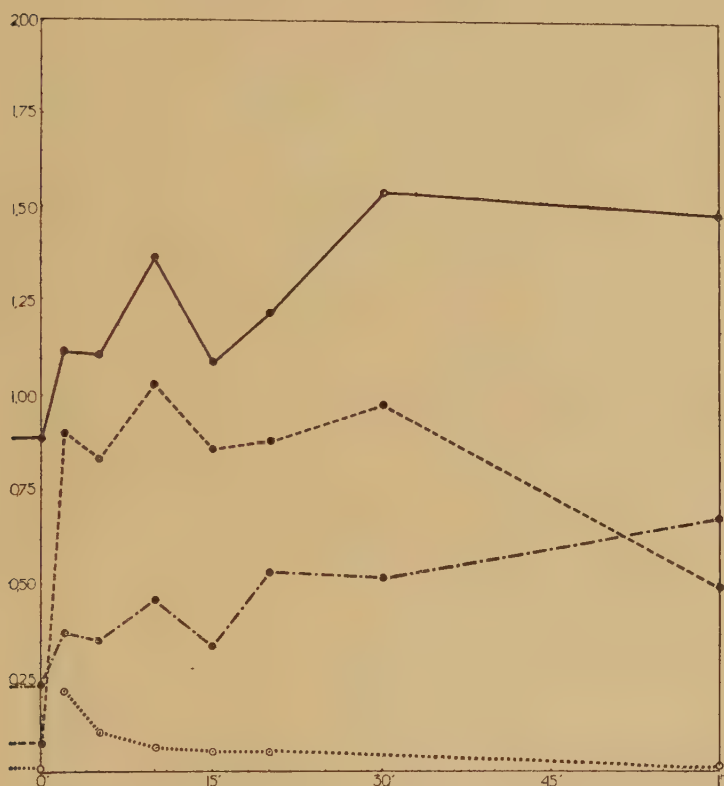


Fig. 3. — Courbe des variations du taux (première partie de la courbe II, à une plus grande échelle), après injection de 50 milligrammes d'acide ascorbique à des cobayes normaux (surrénale 1 mgr.). Méthode de Tillmans. En ordonnée, le taux d'acide ascorbique en milligrammes par gramme de tissu frais. La ligne continue = surrénale ; petits traits = rein ; petits traits et points = foie ; petits points = sang. Seule la courbe de descente du sang est figurée à partir du premier dosage à 2'. On voit que l'augmentation du rein est beaucoup plus rapide que dans la surrénale et le foie. On voit également que la baisse y est plus précoce.

FOIE. — Selon de Caro, après injection de 25 mgr. d'acide ascorbique le foie augmenterait tardivement.

Nos observations montrent que le foie se charge assez lentement, mais par contre d'une façon beaucoup plus stable que les autres organes. Le maximum ne serait en effet, d'après nos chiffres, atteint que deux heures après l'injection. D'autre part, d'après les expériences, le foie paraît conserver sa charge assez longtemps. Ce fait se retrouve dans nos deux séries d'expériences. Sur notre figure se manifeste clairement la courbe ascendante du foie qui vient couper la courbe descendante du rein.

Le foie paraît donc jouer, jusqu'à un certain point, du fait de cette propriété, le rôle d'organe de réserve, comme il le fait pour beaucoup d'autres substances: glucides, protides, lipides et aussi pour certaines vitamines, la vitamine A en particulier (Randoin, Netter).

REIN. — Le rein fixe extrêmement vite l'acide ascorbique. Normalement il ne contient que 0 mgr. 17 chez le cobaye, au bout de deux minutes il contient 0 mgr. 90. Il se maintient un peu à ces niveaux élevés et au bout d'une heure s'appauvrit progressivement au fur et à mesure que l'acide ascorbique est éliminé par l'urine. Nous y reviendrons plus loin.

Tels sont les faits observés sur des cobayes normaux (surrénale 1 mgr.). On voit qu'il se produit une augmentation marquée portant sur les organes riches,

mais qui est temporaire de l'acide ascorbique des tissus.

Les organes riches atteignent des valeurs très grandes mais temporaires.

Le foie semble au contraire accumuler d'une façon plus stable. *La concentration de la vitamine constituerait dans le foie une sorte de réserve. Au contraire la capacité de concentration considérable des organes riches (surrénales) serait en relation avec des propriétés fonctionnelles (oxydo-réduction).*

TABLEAU III
FIXATION D'ACIDE ASCORBIQUE.

		<i>Cobayes saturés.</i>				
		Surrén.	Foie	Rein	Test.	Sang
		—	—	—	—	—
<i>Cobayes normaux.</i>		2,41	0,46	0,22	♀	0,006
		1,13	0,22	0,13	0,26	0,002
		3,75	0,60	0,21	0,56	0,003
		2,72	0,54	0,21	0,55	×
		2,27	0,46	0,24	♀	×
		2,25	0,49	0,13	0,50	×
		2,10	0,55	0,19	×	×
		1,56	0,64	0,28	×	0,01
		2,11	0,84	0,17	♀	0,01
		3,20	0,87	1,40	♀	0,30
		3,30	0,85	1,69	♀	0,37
		2,58	0,66	1,37	♀	0,37
		2,83	0,84	1,08	♀	0,17
		2,66	0,84	1,92	1,47	0,48
		1,28	0,67	0,85	♀	×
Cobayes normaux, injectés de 50 mgrs. d'acide ascorbique intra-veineux. — Dosés au bout de :	2 minutes.	2,88	0,90	1,35	0,60	0,16
	5 minutes.	1,26	0,50	0,82	×	0,005
		1,65	0,67	0,70	0,46	0,005
	20 minutes.	2,08	0,82	0,85	×	×
		3,07	1,21	1,57	0,73	0,15
		2,52	0,84	1,36	0,60	×
	30 minutes.	2,60	0,78	1,04	♀	×
		2,19	1,03	1,33	♀	0,05
		2,92	0,98	0,61	0,58	0,003
	1 heure...	2,55	0,94	0,62	♀	0,01
		2,29	0,79	1,02	0,65	0,09
	4 heures..	1,80	0,81	0,24	0,45	0,003
		2,54	0,80	0,32	0,80	0,01
		1,95	0,99	0,38	0,60	0,004
	5 heures..	1,90	1,23	0,32	♀	0,01
		1,85	1,13	0,33	♀	0,006
	6 heures..	3,12	0,91	0,30	0,62	0,01
		2,41	0,87	0,29	0,55	0,003
		2,58	1,09	0,34	0,51	0,009

Nous avons effectué la même expérience sur des animaux rendus plus riches en vitamine (surrénale 2 mgr. 25) par un régime contenant beaucoup de vitamine (feuilles de choux-fleurs contenant 3 mgr. par gramme).

Nous avons dosé les organes de ces animaux au bout des mêmes temps que précédemment, après avoir injecté les mêmes doses. Les résultats sont différents. Les variations des taux de l'acide ascorbique dans les divers organes sont moins marquées et plus irrégulières. Les augmentations constatées sont moins sensibles que dans l'expérience précédente sur des animaux à 1 mgr. (surrénale) ; il semble que l'on ait atteint un degré maximum d'accumulation et qu'on ait réalisé une saturation.

Deux faits viennent confirmer cette interprétation, c'est d'une part les chiffres élevés du sang, que l'on observe dans cette seconde expérience, et qui sont bien plus élevés que dans l'expérience précédente (0 mgr. 34 au lieu de 0 mgr. 21). Tout se passe comme si la diffusion normale dans les organes ne pouvait plus se faire.

D'autre part, on observe une accentuation très nette de la fixation par le rein et de l'élimination urinaire. On constate d'abord que le rein fixe plus vite la vitamine (le maximum de concentration est obtenu en 2' au lieu de 10') et enfin le taux atteint bien plus élevé : 1 mgr. 48 au lieu de 1 mgr. 03. L'élimination urinaire est également différente puisque cette fois-ci tout l'acide ascorbique injecté est éliminé au bout

de 5 à 6 heures, tandis que dans la première seulement la moitié était éliminée.

La réalité du phénomène de fixation de la vitamine C par les organes est bien démontrée par l'étude des animaux soumis à divers régimes. L'accumulation différentielle des divers organes est simultanément bien établie.

Mais cette fixation, même par le foie, est instable, comme il résulte de l'étude de l'avitaminose, où l'on voit très vite disparaître la vitamine des organes.

L'introduction brutale d'acide ascorbique détermine une charge nette des organes chez le cobaye carencé (de Caro), moindre chez les cobayes riches en vitamine. Elle ne modifie guère celle des cobayes très riches, qui peuvent être considérés comme saturés. Cette méthode d'ailleurs ne paraît pas aussi efficace qu'une méthode d'introduction plus lente du fait surtout de l'augmentation considérable de la teneur du sang qui se produit et qui déclenche un intense processus rénal d'élimination.

Les fortes doses ainsi introduites ne donneraient pas les mêmes résultats que des doses égales ou même plus faibles, introduites insensiblement.

CHAPITRE III

ELIMINATION DE LA VITAMINE C PAR LE REIN

En 1922, alors que ni la nature chimique, ni les méthodes de dosage de la vitamine C n'étaient connues, Van der Walle avait étudié l'urine par la méthode biologique et il en avait conclu que l'urine n'avait aucun pouvoir antiscorbutique.

Von Eekelen Emmerie, Josephy et Wolff dosèrent par le dichlorophénol le taux d'un facteur réducteur de l'urine et en conclurent que ce facteur était bien la vitamine C. En effet, les individus absorbant beaucoup de fruits et en particulier, ingérant de fortes quantités de jus de citron, en avaient un taux plus élevé, le même effet était produit par l'injection intra-veineuse de jus de citron décitraté. Par ailleurs, chez les cobayes mis au régime scorbutique, ils voient le facteur réduisant le dichlorophénol diminuer dans les urines. Enfin, ils arrivaient, en faisant ingérer des fruits à un individu, à déceler un pouvoir antiscorbutique de ses urines ; les résultats négatifs de Van der Walle s'expliquant aisément, car il utilisait l'urine matinale d'un homme normal

et cette urine est généralement très pauvre en vitamine.

Harris, Ray et Ward (1933) ont confirmé la présence du facteur C dans les urines, et montré que chez un Anglais à un régime habituel le taux de vitamine C dans les urines était sensiblement constant et stabilisé aux environs de 30 à 33 mgr. par jour.

L'administration de fortes doses de vitamine sous forme de jus d'orange (600 cc.) donnait une élévation très marquée du taux d'acide ascorbique excrété (environ 300 mgr.), ils obtenaient des résultats analogues avec l'acide ascorbique cristallisé.

Von Euler (1933) étudia également l'urine, il en conclut que l'urine des femmes enceintes est plus riche en vitamine C qu'habituellement.

Giroud et Leblond (1934), par leur réaction au nitrate d'argent acide, ont pu déceler la présence de la vitamine C au niveau du rein, ils ont noté que la réaction était surtout nette chez les animaux ayant reçu une grande quantité de vitamine (Giroud, Leblond et Galélovitch, mars 1934). La réaction, nulle chez l'animal avitaminé (cobaye) est légère chez les animaux au régime normal et se localise au niveau des tubes contournés. Chez les animaux recevant de fortes doses de vitamine C, les coupes histologiques du rein montrent de nombreux tubes contournés qui présentent la réaction. Ils en concluaient que ces intenses réactions observées chez l'animal hypervitaminé, alors que dans ce cas on connaît la pré-

sence de la vitamine dans son urine, doivent correspondre au passage de l'acide ascorbique par les cellules des tubes contournés (Leblond, 1934).

Hess et Benjamin (1934) ont étudié la question des carences et des hypervitaminoses et auraient observé des résultats sensiblement analogues, soit avec un régime normal, soit avec un régime avitaminé (depuis peu) soit, enfin, avec 10 à 80 cc. de jus d'orange par jour, chez le lapin où ils observent 1,95 à 2,60 par jour (ceci chez le cobaye où ils trouvent 0 mgr. 15 à 0 mgr. 30 par jour), chez le lapin où ils observent 1,95 à 2,60 par jour et chez le rat où ils trouvent 0,06 à 0,14 par jour. Il n'y aurait donc pas d'augmentation de l'élimination dans les hypervitaminisés. Ces résultats ne concordent pas avec les nôtres; ils s'expliquent, peut-être, par les méthodes employées pour recueillir l'urine.

Chez l'enfant, ces mêmes auteurs arrivent à la conclusion suivante : les enfants normalement nourris n'excrètent pas de quantités appréciables de vitamine C ; suivant cette conception, qui n'est plus admise aujourd'hui (Harris et Ray, Drigalski) seule la vitamine en excès serait éliminée, et à l'état normal habituel, il n'y aurait pas de vitamine C dans les urines.

Par ailleurs, Hess et Benjamin, en faisant ingérer une pinte de jus d'orange (0 litre 576) à un enfant avitaminé, notent qu'il faut un certain nombre de jours pour obtenir l'élévation du taux des urines (4 jours habituellement). D'ailleurs après cette éléva-

tion, si on arrête l'ingestion de vitamine, l'élimination retombe aux environs de 0, à ce moment, une nouvelle ingestion fait remonter immédiatement le taux de vitamine des urines sans période de latence observée dans le premier cas.

On pourrait admettre que pendant cette période de latence, l'acide ascorbique ingéré est utilisé intégralement par l'organisme pour constituer ses réserves, une fois celles-ci établies, l'élimination urinaire commence.

Johnson et Zilva (1934) ont confirmé le fait que l'élimination urinaire ne dépend pas seulement des ingestions momentanées, mais encore de l'état antérieur du sujet, celui-ci doit être saturé avec la vitamine, avant que son taux d'excrétion devienne à peu près constant.

Ces auteurs ont en effet d'une part confirmé que, si un sujet est avitaminé depuis longtemps on peut donner 30,60 voire 90 mgr. d'acide ascorbique sans voir apparaître de pouvoir réducteur des urines avant plusieurs jours ; d'autre part, en poursuivant cette administration journalière d'une quantité fixe d'acide ascorbique, ils ont vu par la suite augmenter le pouvoir réducteur des urines, jusqu'à un certain taux autour duquel il se maintient. Il y a alors stabilisation, le sujet est saturé.

Si chez un sujet saturé on donne une très forte dose d'acide ascorbique, il y a un maximum d'excrétion environ 4 heures après l'ingestion; au bout de 24 heures le taux des urines est revenu au taux initial.

Nous verrons des faits plus frappants encore chez le cobaye, montrant que le maximum d'excrétion est très rapproché du moment de la pénétration de la vitamine. Ces faits permettent de comprendre que des auteurs étudiant seulement les quantités totales éliminées par jour, aient pu ne pas voir de fortes variations par l'injection ou l'ingestion d'une seule dose de vitamine.

De Caro (1934) étudie la carence et l'hypervitaminose chez le cobaye par la méthode de Tillmans comme d'ailleurs tous les précédents auteurs. Ses résultats se résument dans le tableau suivant où les chiffres en milligrammes représentent l'acide ascorbique éliminé avec l'urine des 24 heures.

Cobaye normal	Cob. scorbutique	Cob. normal après injection de 25 mmgr d'acide ascorbique	C. scorbutique après injection de 25 mmgr d'acide ascorbique
2,82	0,67	12,58	7,27
1,50	0,30	13,15	4,21
5,25	0,17		8,70
4,52	0,20		

Ces chiffres montrent que le cobaye scorbutique fixe une plus grande partie de l'acide ascorbique injecté, que le cobaye normal, mais ce qui prouve également la facilité de déperdition de cette substance même chez l'animal qui est carencé.

Rohmer et Bezssonoff (1934) utilisant la réaction de Bezssonoff à l'acide phospho-molybdo-tungstique, étudient la vitamine C dans l'urine. Ils observent que chez l'homme et le cobaye la réaction disparaît après

24 heures de régime avitaminé. Ils supposent que le nourrisson humain, chez qui la réaction semble persister au cours du régime avitaminé, synthétise la vitamine C, ce fait se produirait seulement jusqu'à l'âge de 12 mois.

Bezssonoff, Stoerr et Perrier voient que dans le sérum, la réaction disparaît seulement au bout de 5 jours. Ils ont étudié d'autre part, le taux de vitamine dans l'urine et le sérum, après des injections sous-cutanées de vitamine C (200 mgr. par kilog), ils observent une élévation du taux; suivie d'un retour à la normale dans le sang et l'urine, mais bien plus rapide pour le sang.

Mouriquand et Cœur, par contre, ne constatent pas la disparition rapide de la réaction de Bezssonoff dans l'urine, au cours du scorbut expérimental. Ils voient des variations assez grandes dans la date de cette disparition, puisque dans un cas ils obtiennent encore la coloration violette au 30^e jour.

Drigalski (1935) remet récemment en question l'hypovitaminose elle-même, il observe que des régimes hypovitaminés comme ceux des hépathiques, néphritiques, gastriques (régime de Leube Ewald) ne produisent pas une diminution du chiffre moyen de vitamine C des urines (30 à 40 mgr. par jour). Après avoir étudié ce taux dans les urines de malades variés, il conclut que les multiples opinions modernes sur l'appauvrissement des organismes en vitamine par les infections n'ont pu être vérifiées.

Il pense que, pas plus que l'infection, l'exposition

au soleil et l'administration d'autres vitamines (A, B, D) ne jouent de rôle dans le taux de vitamine C contrairement à Waldmann qui n'observait plus d'élimination urinaire d'acide ascorbique chez des rats au riz poli, alors qu'en ne les privant que du facteur C, ils en éliminent ; cette expérience avait fait penser que les autres vitamines interviennent dans la synthèse de la vitamine C chez le rat.

L'augmentation du débit urinaire augmenterait la quantité de vitamine éliminée.

Enfin Drigalski insiste sur le fait qu'il observe des fluctuations du taux de vitamine dans l'urine et non la stabilisation du taux signalée par de nombreux auteurs.

Schröder (1935) ainsi que Gabbe (1934 et 1935), contrairement au précédent, trouvent des modifications de l'élimination urinaire dans les maladies infectieuses. D'après Schroeder, en particulier, au cours des maladies infectieuses, il y a augmentation de l'élimination de vitamine C ; pendant la convalescence, celle-ci diminue dans l'urine, montrant que l'organisme se charge à nouveau.

**

Nous avons étudié personnellement l'élimination normale de l'acide ascorbique chez l'homme et le cobaye soumis à divers régimes ; nous avons en particulier suivi l'élimination provoquée par l'injection de cette substance et cela par des méthodes chimiques ou histologiques.

OBSERVATIONS CHIMIQUES

A la suite des injections, nous avons dosé l'acide ascorbique soit dans les urines recueillies par sondage à des moments définis, soit dans le rein lui-même après sacrifice de l'animal.

On voit que très rapidement l'acide ascorbique s'accumule dans le rein. Le phénomène est extrêmement rapide. Il est plus rapide qu'au niveau du foie, de la surrénale. Le taux maximum s'y trouve réalisé au bout de quelques minutes, alors qu'il faut plus d'une heure pour qu'il en soit de même pour la surrénale.

L'accroissement est aussi beaucoup plus intense que dans les autres organes. Le rein part d'un niveau assez bas (0 mgr. 07), pour atteindre celui de 1 mgr. et plus. Le coefficient d'accroissement du taux est de 14,7, tandis que pour le foie, il n'est que de 3,40 et de 2,10 pour la surrénale.

Ces phénomènes sont beaucoup plus marqués chez les animaux saturés (surrénale, 2 mgr. 25).

Si on étudie l'évolution du taux dans les urines, on constate que l'élimination se fait rapidement et d'une façon considérable ; on constate un certain retard sur le phénomène que nous avons signalé au niveau du rein. La maximum du taux de l'acide ascorbique dans l'urine apparaît en effet plus tardivement que dans le rein. Il y a donc semble-t-il, deux phénomènes à distinguer dans l'acte rénal, un phénomène d'accumulation, correspondant aux propriétés fon-

TABLEAU IV

ELIMINATION DE VITAMINE C PAR L'URINE.

(Taux de vitamine ramené au cc., après injection
de 50 mgrs. d'acide ascorbique intraveineux.)

Cobayes	Cobayes moyen. riches			Cobayes saturés		
	1	2	3	4	5	6
	mgr.	mgr.	mgr.	mgr.	mgr.	mgr.
Urine normale.	0,07	0,31	0,72	0,22	0,19	0,13
5' apr. injection	×	×	27,36	21,25	23,14	13,33
10' »	×	×	49,44	24,50	62,00	13,50
15' »	14,19	20,58	40,87	30,00	54,40	29,70
30' »	35,25	12,19	39,65	110,00	59,26	27,84
45' »	53,16	16,34	30,80	25,65	34,56	39,15
1 heure »	44,40	9,54	18,91	14,50	25,34	27,81
1 h. 1/2 »	42,12	4,24	2,13	5,00	8,32	23,22
2 heures »	14,50	3,44	0,24	3,00	3,20	1,64
2 h. 1/2 »	3,12	0,95	0,24	0,75	×	×
3 heures »	×	×	×	×	1,98	1,02
3 h. 1/2 »	0,48	0,55	×	0,50	×	×
4 heures »	×	×	×	×	0,83	0,24
4 h. 1/2 »	0,18	0,42	0,12	×	×	×
5 heures »	0,15	×	×	×	0,55	0,16
5 h. 1/2 »	×	0,37	×	×	×	×
6 heures »	×	0,53	×	×	0,19	×
Quantité totale éliminée par les urines ..	21,02	32,45	49,04	54,00	17,66	53,48
Quantité retenue dans l'orga- nisme	28,98	17,55	0,96	0	32,34	0

damentales et primitives du rein et un phénomène d'élimination.

Les phénomènes sont un peu différents selon que l'on étudie des animaux eux-mêmes plus ou moins



Fig. 4. — Variations du taux de la vitamine C dans l'urine de 3 cobayes injectés de 50 mgr. d'acide ascorbique. Méthode de Tillmans. En ordonnée, le taux d'acide ascorbique en milligrammes par centimètre cube d'urine.

riches en acide ascorbique qu'avec des animaux assez riches (1 mgr. surrénale), l'élimination est plus lente et moins complète qu'avec les animaux très riches (2 mgr. 25 surrénale) (tableau IV). Chez ces derniers, les organes sont plus ou moins saturés d'acide ascorbique, aussi le taux dans le sang s'élève beaucoup et l'élimination devient considérable.

OBSERVATIONS HISTOCHIMIQUES

Nous avons étudié le phénomène d'élimination rénale par la méthode histochimique de Giroud et Leblond.

Ces auteurs ont signalé les phénomènes histologiques caractérisant le passage de l'acide ascorbique au niveau du rein. Ils avaient déjà constaté que des traces de ce processus se manifestent avec les régimes habituels, mais qu'il se produit une grande accentuation avec des régimes hypervitaminés.

Nous avons donc pratiqué, selon la technique histochimique, la réaction au nitrate d'argent acide à des temps variés, après nos injections de l'acide ascorbique dans la circulation. Après ouverture de la paroi abdominale, on remarque de suite que le rein, qui normalement reste plus ou moins pâle, devient, au cours de cette élimination, fortement grisâtre et presque noirâtre. Le rein sectionné en deux, la partie corticale apparaît fortement colorée, tandis que la substance médullaire reste plus claire. Sur les coupes histologiques, les phénomènes de l'élimination sont

nets au bout de quelques minutes. On reconnaît au premier coup d'œil, la présence en quantité considérable de l'acide ascorbique dans certains tubes rénaux dont les cellules sont remplies de granulations argentiques. La présence de l'acide ascorbique dans le sang au niveau des vaisseaux se manifeste

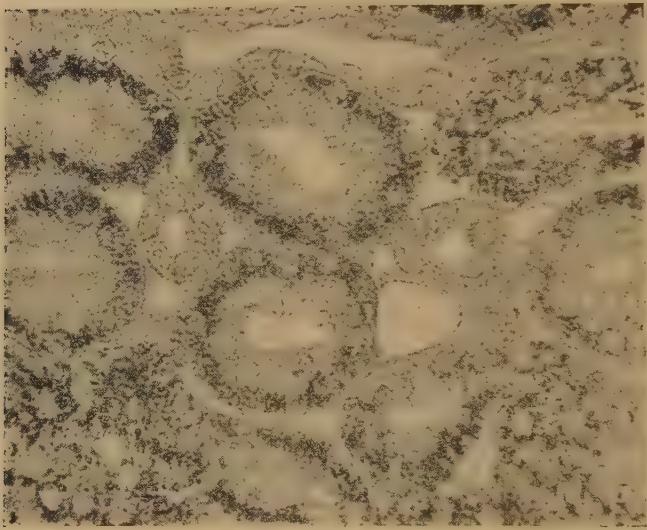


Fig. 4. — Microphoto de rein de cobaye après injection de 50 mgr. d'acide ascorbique. Technique histochimique de Giroud et Leblond au nitrate d'argent. On voit que seuls les tubes contournés contiennent des granulations d'argent métallique. Les deux pièces intermédiaires (tubes plus petits) n'en contiennent pas. Seuls, les tubes contournés, renferment donc de l'acide ascorbique en quantité importante.

par une coloration plus ou moins marquée de la paroi de ces derniers ainsi que par celle des globules rouges. Dans les espaces intertubulaires, on peut souvent

même observer le passage de l'acide ascorbique. Dans la cavité glomérulaire par contre, on ne constate aucune réaction argentique, il en est de même d'ailleurs dans les lumières du tube urinifère qui lui fait suite.

Seuls les tubes à bordure en brosse (tube contourné, partie descendante de l'anse de Henle) sont très nettement colorés. Le protoplasma de leurs cellules constitutives est plus ou moins bourré de grains métalliques souvent disposés en séries parallèles selon l'axe cellulaire. Il ne semble pas possible encore de dire si cette réaction est localisée au chondriome, elle affecte en tout cas une disposition assez suggestive à cet égard.

Les tubes à bâtonnets (partie ascendante de l'anse de Henle, pièce intermédiaire) au contraire ne donnent pas de réaction. Il en est de même des tubes collecteurs. Tous ces faits prouvent que c'est seulement dans les cellules des tubes à bordure en brosse que l'acide ascorbique se trouve fortement concentré. Ce phénomène se superpose à l'ensemble des faits connus qui montrent l'activité bien spéciale du tube à bordure en brosse. S'agit-il d'une sécrétion ou d'une résorption? Cette accumulation si précoce dans le tube à bordure en brosse, de même d'ailleurs que les chiffres rapidement élevés que révèlent les dosages du rein peuvent incliner à admettre un phénomène de sécrétion.

Nous ne tirerons cependant pas ici de conclusion contre la théorie de filtration-résorption de Bow-

mann-Heidenhaim et en faveur de la théorie de la filtration-sécrétion de Ludwig-Cushny dont beaucoup de recherches modernes prouvent le bien-fondé.

Nous nous contenterons de dire simplement que l'étude histochimique a permis et permet de confirmer l'importance de l'élimination rénale de l'acide ascorbique.

ELIMINATION DE VITAMINE C DANS DIVERSES CIRCONSTANCES PHYSIOLOGIQUES

Nous avons étudié aussi chez le cobaye et surtout chez l'homme, l'élimination de l'acide ascorbique.

D'après nos observations, le régime influe d'une façon manifeste sur l'élimination. Nous avons un des sujets ayant un régime comprenant en assez grande abondance, des fruits et des légumes dont l'élimination était assez considérable, 0 mgr. 20 par centimètre cube.

Nous en avons observé d'autres ayant des régimes déficitaires en vitamine C ; nous avons constaté chez eux de très petits chiffres, 0,007-0,003 mgr. par cc.

Nous avons suivi l'élimination chez l'homme au régime carencé. Nous avons constaté une forte diminution. Nous avons parfois observé des chiffres nuls, mais en général chez l'homme nous observons même après plusieurs jours de régime de petits chiffres au Tillmans; il est possible d'ailleurs, — et nous ne pouvons le discuter ici, — que ce réactif ne dose pas exclusivement l'acide ascorbique.

Cette élimination paraît suivre de près l'absorp-



Fig. 6. — Courbe d'élimination de l'acide ascorbique dans les urines chez l'homme. Régime normal stable. A partir du signe + : absorption de 100 mgr. d'acide ascorbique en supplément. Dosage par la méthode de Tillmans. Les valeurs portées en ordonnées expriment en milligrammes l'acide ascorbique total éliminé par miction (3 mictions par jour correspondent à l'urine totale).

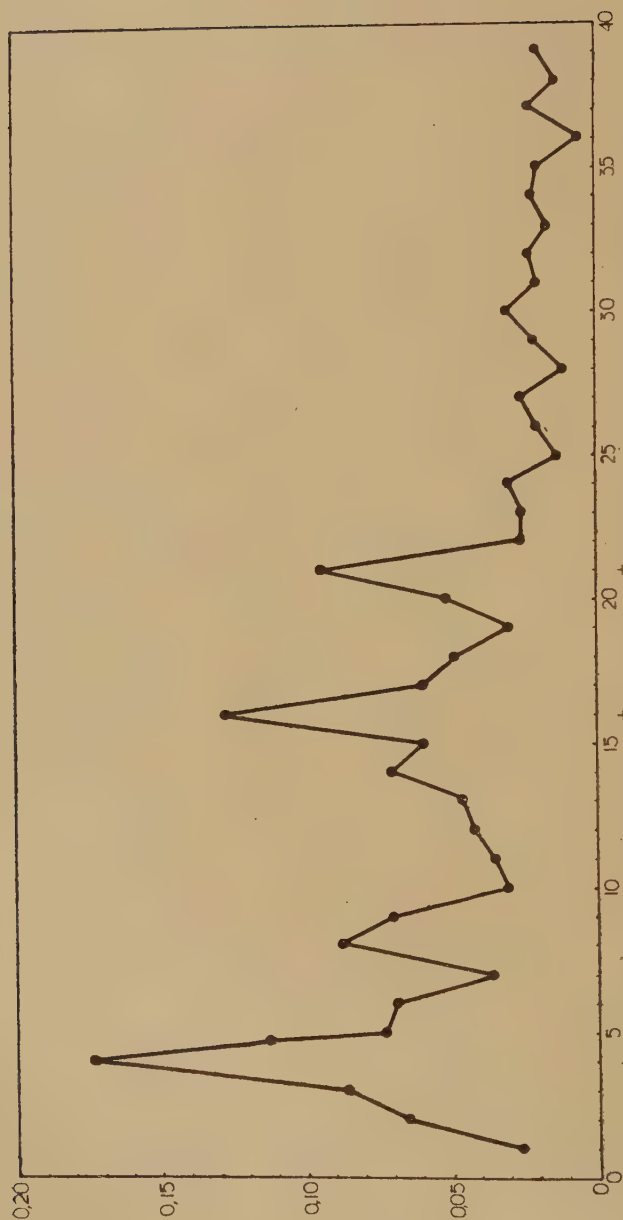


Fig. 7. — Courbe d'élimination de l'acide ascorbique dans les urines chez l'homme. Pendant toute l'expérience le sujet reçoit 100 mgr. d'acide ascorbique, mais pendant la première partie (jusqu'au 22^e jour) il reçoit une alimentation comprenant des végétaux et des fruits (orange). Les signes + indiquent une consommation plus forte des végétaux verts. Dosage par la méthode de Tillmans. Les chiffres des ordonnées sont exprimés en milligrammes d'acide ascorbique par centimètre cube. Les jours en abscisse.

tion. On constate en effet que l'élimination a atteint son maximum environ 5 heures après le repas. L'élimination journalière se trouve répartie d'une façon hétérogène. Les urines du matin renferment moins d'acide ascorbique que celles de midi. Les plus riches sont celles du soir. Ceci s'observe habituellement même dans le cas de régime avitaminé. Divers facteurs nous ont également paru jouer un rôle : ce sont la présence ou l'absence de vitamine A, l'ingestion d'alcool (augmentation de l'élimination) ; nos observations ne sont pas encore à l'heure actuelle suffisamment poussées pour insister.

CONCLUSIONS GENERALES

Le taux de la vitamine C n'est pas le même pour les différents tissus ou organes. C'est ce qui a permis de classer les tissus ou organes selon leur richesse en: pauvres, intermédiaires et riches.

Ce taux est de plus extrêmement instable tout au moins chez les animaux qui ne synthétisent pas cette substance (homme, singe, cobaye, porc).

Il dépend essentiellement de l'*apport alimentaire*, en acide ascorbique, de la *destruction* et de l'*élimination* de cette substance.

La suppression de tout apport de vitamine C détermine une chute brusque du taux dans les organes, spécialement brutale pour les organes riches comme la surrénale. Cette chute se ralentit ensuite et vers le 10-12^e jour il s'établit un taux nouveau très bas (0,05-0,06 pour la surrénale par gramme de tissus frais au Tillmans) qui semble rester fixe jusqu'à la mort.

Le taux minimum (0,05-0,06 au Tillmans) n'est pas en effet compatible avec la vie; il définit cliniquement la *carence totale*.

Avec des régimes moins pauvres en vitamine C le taux se stabilise à des niveaux plus élevés pouvant

aller depuis le taux de carence jusqu'aux environs de 2 mgr.

Des taux allant de 0 mgr. 05 (surrénale) jusqu'au voisinage de 0 mgr. 30 définissent chimiquement l'état de *précarence*. Ils sont accompagnés de troubles ou de lésions diverses plus ou moins marqués.

Les taux plus élevés, mais au-dessous de l'état normal, caractérisent chimiquement l'état de carence inapparente et mérite le nom de *déficience chimique*.

Avec des régimes plus riches encore on obtient des valeurs plus grandes, soit l'état *normal* que l'on peut définir par rapport aux animaux qui synthétisent l'acide ascorbique; il semble cependant qu'il y ait une limite supérieure (*saturation*) qu'on ne puisse guère dépasser, quelle que soit la masse de vitamine introduite. Ce taux maximum paraît un peu supérieur à 2 mgr. par gramme chez le cobaye. Il n'est atteint qu'avec l'introduction de quantités considérables de vitamine cent fois supérieures à la dose minima vitale.

Les *doses données classiquement* comme nécessaires pour le cobaye (4 mgr. 5 par kilog) et pour l'homme, de 1 mgr. 12 par kilog, *ne sont pas suffisantes pour empêcher toutes les lésions et tous les troubles*.

L'introduction brusque d'acide ascorbique par voie veineuse détermine un accroissement du taux des organes d'autant plus faible que l'on s'approche de la limite supérieure. Cet accroissement est passager ; il est plus stable chez des animaux carencés. La

charge est plus irrégulière et plus fugace chez des animaux dont les organes ont atteint le taux de saturation.

Dans tous les cas (après ou sans injection) c'est au niveau des *organes riches* (surrénales) que sont atteints les taux les plus élevés. Ces taux sont probablement en rapport avec des propriétés fonctionnelles (potentiel d'oxydo-réduction).

Le *foie* accumule aussi d'une façon importante l'acide ascorbique et sa charge est assez stable, beaucoup plus que celle de la surrénale. Le rôle de réserve du foie paraît donc important.

L'élimination de l'acide ascorbique est facile. Le taux de cette élimination est fonction de l'alimentation. Après injection d'acide ascorbique, on voit que le rein a une très grande capacité de fixation, puis d'élimination. On peut le constater chimiquement et histochimiquement. Tous ces phénomènes sont rapides et le sont d'autant plus que le taux général des tissus est plus élevé avant l'injection.

VU: *le Doyen,*
ROUSSY.

VU: *le Président,*
CHAMPY.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER:
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLETY.

BIBLIOGRAPHIE

- BACHARACH. — *Vitamin C and Ascorbic acid*, *Nature*, 1933, t. 131, p. 364.
- BESSESEN. — *Changes in organ weights of the guinea pig during experimental scurvy*. *Americ. J. physiol.*, 1922, t. 63, p. 245.
- BEZSSONOFF et DELIRE. — Sur les réactions colorées de la vitamine C. *C. R. Acad. Sc.* 1933, t. 196, p. 2.036.
- BEZSSONOFF. — Sur l'identification de la vitamine C. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1934, t. 16, p. 1.107.
- BEZSSONOFF, DELIRE et VAN WIEN. — L'activité réductrice de la vitamine C et d'autres réducteurs biologiques exprimée en fonction de leur concentration. *Bull. Soc. Chimie biol.* 1934, t. 16, p. 1.133.
- BEZSSONOFF et VAN WIEN. — Sur l'identification et le dosage de la vitamine C dans les milieux biologiques. *Bull. Soc. Chimie biol.* 1934, t. 16, p. 1.160.
- BEZSSONOFF. — Sur une erreur facilement commise au cours des dosages de la vitamine C par le réactif de Bezssonoff. *C. R. Soc. Biol.* 1935, t. CXVIII, p. 1.088.
- BEZSSONOFF, STOERR et PERRIER. — La teneur en vitamine C du sang et des urines après injections massives. *C. R. Soc. Biol.* 1935, t. 118, p. 1.090.
- BERTOYE (P.). — Les formes frustes et l'étude des avitaminoses, 7^e Congrès des Pédiâtres de Langue Française, Strasbourg, octobre 1931.
- BIRCH and DANN. — *Estimation and distribution of ascorbic acid (vit. C) and glutathion in animal tissues*. *Nature*, 1933, t. 131, p. 469.

- BIRCH, HARRIS and RAY. — *Hexuronic (ascorbic) acid as the antiscorbutic factor and chemical determination.* *Nature*, 1933, t. 131, p. 273.
- BOURNE. — *Vitamin C in the adrenal gland.* *Nature*, 1933, t. 131, p. 874.
- BROWNING. — *The vitamins.* London, Baillière, Tindall n. Ci., 1931.
- BRÜGGEMANN. — *Notiz Ueber die antiskorbutische Wirkung der Ascorbinsäure Hoppe Seuler's Zeitschrift f. physiol. Chem.* 1933, t. CCXVI, p. 139.
- BESSEY and KING. — *The distribution of vitamin C in plant and animal tissues and its determination.* *J. Biol. Chem.* 1933, t. 103, p. 687.
- DE CARO. — *Ueber die Fähigkeit von Gewebe, Ascorbinsäure zu fixieren (im Normalzustand und in Avitaminose C).* *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1934, t. 223, p. 229.
- CHAMPY. — *Précis d'histologie.* Baillière, 1928.
- COX and HIRST. — *Constitution of vitamin C.* *Nature*, 1933, t. 131, p. 402.
- DALMER und MOLL. — *Zur Frage der antiskorbutischen Wirkanseit ascorbinsäureähnlicher Verbindungen.* *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1933, t. 222, p. 116.
- DRIGALSKI. — *Ueber vitamin C im urin von Gesunden un Kranken Berlin klin Wochenschi*, 1935, t. 14, p. 338.
- EEKELÉN (VAN), EMMERIE, JOSEPHY and WOLFF. — *Vitamin C in blood and urine.* *Nature*, 1933, t. 132, p. 315.
- EEKELÉN (VAN), EMMERIE, JOSEPHY and WOLFF. — *Ueber vitamin C in Körperflüssigkeiten.* *Klin. Wochenschr.* 1934, t. 13, p. 564.
- EULER and KLUSSMANN. — *Studien über C Vitamin.* *Svensk. kem. Tidsk.* 1933, t. 44, p. 290.
- EULER und KLUSSMANN. — *Physiologische Versuche über Vitamin C und Reduktion.* *Hoppe Seyler's Ztschr.* 1933, t. 217, p. 167.
- FLOHIL. — *Scorbut by honden.* *Tijdschr. v. Diegeneesesk* 1933, t. 60, p. 633.

- GABBE. — Détermination de la vitamine C dans le sérum. *Klin. Wochensch.*, Berlin, 1934, 14, 1389.
- GALVAO et CARDOSO. — Vitamine C et surrénales. *C. R. Soc. Biol.* 1934, t. 115, p. 350.
- GIROUD et LEBLOND. — Localisation de la vitamine C au niveau de la glande génitale mâle. *C. R. Soc. Biol.* 1934, t. CXV, p. 841.
- GIROUD, LEBLOND et GIROUX. — La vitamine C dans l'ovaire et le corps jaune. *C. R. Acad. Sciences*, 27 février 1934.
- GIROUD et LEBLOND. — Variations de la teneur des tissus en acide ascarbique (vitamine C). *C. R. Soc. Biol.*, t. 118, p. 1.179.
- GIROUD, LEBLOND et RABINOWICZ. — Répartition de la vitamine C dans l'organisme. *C. R. Soc. Biol.* 1934, t. 115, p. 1.088.
- GIROUD et LEBLOND. — Localisation histochimique de la vitamine C dans la glande surrénale. *Archiv. Anat. micr.* 1934.
- GIROUD, LEBLOND, DEMAY et GIROUX. — Les organes riches en vitamine C. *C. R. Ass. Anat. Bruxelles*, 1934.
- GIROUD, LEBLOND et GALELOVITCH. — La vitamine C (acide ascorbique) et sa répartition dans les divers organes. *C. R. Ass. Anat. Bruxelles*, 1934.
- GIROUD, RATSIMAMANGA et LEBLOND. — Relations entre la vitamine C et les carotinoïdes. Maturation des fruits. *C. R. Soc. Biol.*, t. CXVIII, p. 874, 1935.
- GIROUD, RATSIMAMANGA et LEBLOND. — Parallélisme entre la vitamine C et la chlorophyle. *C. R. Soc. Biol.*, t. 117, p. 612.
- GIROUD, LEBLOND, RATSIMAMANGA et RABINOWICZ. — L'acide ascorbique ou vitamine C au niveau du tégument. *Bull. Soc. Franç. Dermatologie et de Syphiligraphie* n° 3, mars 1935.
- GOTHLIN. — *Nord. Med. Tidsskr.* 1932, t. 4, p. 225.

- GOUGH and ZILVA. — *The silver nitrate staining reaction for ascorbic acid in the adrenal, pituitary and ovary of various species of animals.* *Biochem. J.* 1933, t. 27, p. 1.279.
- HARDEN and ZILVA. — *Antiscorbutic factor in lemon juice.* *Bioch. Journ.* 1918, t. 12, p. 259.
- HARDE. — *Détermination de la vitamine C dans les tissus d'animaux par une modification de la méthode argentique.* *C. R. Soc. Biol.* 1934, t. CXVI, p. 153.
- HARRIS and RAY. — *Vitamin C and the suprarenal cortex (antiscorbutic activity of ox suprarenal).* *Bioch. J.* 1932, t. 26, p. 2.067.
- HARRIS and RAY. — *Vitamine C and suprarenal cortex (Loss of potency of guinea pig suprarenals in scurvy with notes on a method for determining antiscorbutic activity (hexuronic acid by chemical means).* *Bioch. J.* 1933, t. 27, p. 303.
- HARRIS and RAY. — *Specificity of hexuronic (ascorbic) acide as anti-scorbutic factor.* *Bioch. J.* 1933, t. 27, p. 580.
- HARRIS, RAY and WARD. — *The excretion of vitamin C in human urine and its dependance on the dietary intake.* *Bioch. J.* 1933, t. 27, p. 2.011.
- HARRISON. — *The action of vitamin C on the oxidation of tissues in vitro* *Biochem. J.* 1933, t. 27, p. 1.501.
- HAWORTH. — *Synthesis of ascorbic acid.* *J. Soc. Chem. Ind.* 1933, t. LII, p. 645.
- HERBERT, HIRST, PERCIVAL, REYNOLDS and SMITH. — *The constitution of ascorbic acid.* *J. Chem. Soc.* 1933, sept. p. 1.270.
- HESS et BEJAMIN. — *Urinary excretion of vitamin C.* *Praoc. Soc. exp. Biol. Med.* 1934, t. 31, p. 855.
- HOJER. — *The influence of lemon juice on tissue respiration of normal and scorbutic guinea pig.* *Skand. Archiv. Physiol.* 1925, t. 47, p. 242.
- HUSZAK. — *Ueber den Ascorbinsäure gehalt der Corpora lutea* *Hoppe Seyler's Ztschr. Physiol. Chem.,* 1933, t. 219, p. 275.

- JAKOBSEN. — L'intestin, lieu de dépôt de l'acide ascorbique. *C. R. Soc. Biol.*, t. 118, p. 924.
- JOHNSON et ZILVA. — *The urinary excretion of ascorbic and dehydroascorbic acids in man. Bioch. J.*, 1934, t. 28, p. 1933.
- KARRER, SALOMON, MORF and SCHOPP. — Zur Kenntnis des antiskorbutischen Vitamins. *Bioch. Ztschr.* 1933, t. 258, p. 4.
- KARRER and ZEHENDER. — Vitamin C als aktivator katalytischer Enzyme *Helv. Chim. acta*, 1933, t. 16, p. 701.
- LA MER and CAMPBELL. — *Changes in organ weight produced by diets deficient in antiscorbutic vitamin. Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 1920, t. 18, p. 32.
- LEBLOND. — *Recherches histologiques sur la répartition et le cycle de la vitamine C dans l'organisme*. Paris, thèse méd., 1934.
- LESNE, CHRISTIAN et VAGHANOS. — Passage dans le lait des vitamines C introduites par voie parentérale. *C. R. Ac. Sc.* 1923, t. CLXXVI, p. 1.006.
- MAC COLLUM and PITZ. — *The vitamine hypothesis and deficiency diseases. A Study of experimental scurvy. Journ. Biol. Chem.* 1917, t. 31, p. 229.
- MICHEEL und KRAFT. — *Die Konstitution des Vitamins C. Hoppe Seyler's Zitschr. f., Physiol. Chem.* 1933, t. 218, p. 280.
- MOTTERN, NELSON et WALKER. — *J. Am. of Agric. Chem.* 1932, 614.
- MOURIQUAND. — La suralimentation équilibrée et la suralimentation déséquilibrée dans la genèse du rachitisme et du scorbut. *Archiv. Méd. des Enfants*, 1929, t. 32, p. 395.
- MOURIQUAND. — Dystrophie inapparente. *Acad. Méd.*, 14 oct. 1930, n° 32.
- MOURIQUAND. — Les dystrophies inapparentes. *Presse Méd.*, 19 sept. 1931, n° 75.
- MOURIQUAND. — Les facteurs de révélation dans les dystrophies inapparentes. *La Presse Méd.*, 1934, n° 19, 7 mars.

- MOURIQUAND, M^{me} WEILLE et SIMON. — Acide ascorbique, scorbut expérimental et réaction de Bezssonoff. C. R. Soc. Biol. 1934, t. 116, p. 543.
- MOURIQUAND. — Les phases de curabilité et d'incurabilité des dystrophies alimentaires. Recherches cliniques et expérimentales. *Presse Médicale*, n° 25, 1935, 27 mars.
- MOURIQUAND, EDEL, CŒUR et JOLY. — Action de l'acide ascorbique aux différents stades du scorbut expérimental. C. R. Soc. Biol. 1935, t. CXVIII, p. 886.
- MOURIQUAND et CŒUR. — Précarence C expérimentale et réaction de Bezssonoff. C. R. Soc. Biol. 1935, t. 118, p. 566.
- MULLER. — *Skorbut und Hæmorrhagische Diathese. Centralb. f. allg. Pathol. u. pathol. Anat.* 1933, t. 58, p. 305.
- PARSONS and REYNOLDS. — *The depletion of vitamin C in the liver of the guinea pig on a scorbutic ration. Journ. Biol. Chem.* 1924, t. LIX, p. 731.
- RANDOIN. — Sur le degré d'activité antiscorbutique de l'acide ascorbutique. C. R. Soc. Biol. 1934, t. CXVI, p. 4.
- RANDOIN. — La question des vitamines II. Le facteur antiscorbutique. *Publications de Soc. Chimie Biol.* Masson, Paris, 1923.
- RANDOIN. — La standard international et l'unité internationale de vitamine A. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1933, t. 15, p. 637.
- RANDOIN et LOPEZ LOMBA. — Production de scorbut chez le cobaye et le lapin jeune au moyen d'un nouveau régime biochimiquement équilibré et seulement dépourvu de facteur C. C. R. Acad. Sc. 1923, t. 176, p. 1.003.
- RANDOIN et NETTER. — La nature chimique de la vitamine C ou des vitamines C. *Bull. Soc. Chim. Biol.* 1933, t. 15, p. 275.

- RANDOIN et SIMONNET. — Les données et les inconnues du problème alimentaire. II. La question des vitamines. *Les Presses Universitaires*, Paris, 1927.
- RAY. — *Studies on Vitamin C of the chick embryo*. *Bioch. J.*, 1934, t. 28.
- REICHSTEIN, GRÜSSNER and OPPENAUER. — *Die Synthese der d-Ascorbinsäure (d. fern. des C Vitamins)*. *Helv. Chim. Acta*, 1933, t. 16, p. 561.
- REICHSTEIN, GRÜSSNER and OPPENAUER. — *Synthèse der d- und l-Ascorbinsäure*. *Helv. Chim. Acta*, 1933, t. 16, p. 1.019.
- RIBADEAU-DUMAS. — Les carences frustes chez l'enfant du premier âge. *Presse Médicale*, n° 10, 4 février 1931.
- ROHMER, SANDERS et BEZSSONOFF. — *Synthesis of Vitamin C by the infant*. *Nature*, 1934, t. 134, p. 142.
- ROHMER, BEZSSONOFF et STOERR. — Sur l'excrétion urinaire de la Vitamine C. *C. R. Soc. Biol.* 1934, t. 116, p. 1.414.
- RYGH. — *Das Vitamin C. Ergebn. d. Physiol.* 1933, t. 35, p. 387.
- SALVADORI. — *Nature and value of Bezssonoff reaction for vitamin C*. *Atti. R. Acad. Lincei* 1922, t. 16, p. 369.
- SCHRÖDER. — *Die ausscheidung der ascorbinsäure im gesunden und kranken organismus*. *Klin. Wochens* (Berlin, 1935, 14, 484).
- SIEHRS and MILLER. — *Disappearance of vitamin C from adrenals of guinea pig having scurvy*. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 1933, t. 30, p. 696.
- SODERSTROM and TORNBLOM. — *Comparative investigation into the oxygen consumption of scorbutic and normal guinea pig*. *Upsala Lakariforenings förhandlingar* 1932, t. 38, p. 6.
- SVIRBELY and SZENT-GYORGYI. — *The chemical nature of vitamin C*. *Bioch. J.*, 1933, t. 27, p. 279.

- SVIRBELY. — *The ascorbic acid content of the adrenals and livers of different animals.* Biochem. J., 1933, t. 27, p. 960.
- SZENT-GYORGYI. — *Identification of vitamine C.* Nature, 1933, t. 131, p. 225.
- SZENT-GYORGYI. — *L'acide ascorbique (vitamine C).* Bull. Soc. Chim. Biol. 1933, t. 25, p. 694.
- TILLMANS. — *Das Antiskorbutische vitamin.* Z. untersuch. Lebensmit, 1930, t. 60, p. 34.
- WALLE (VAN DER). — *The presence of the antineuritic and antiscorbutic vitamins in urine.* Bioch. J., 1922, t. 16, p. 713.
- WAUGH and KING. — *The vitamine C activity of hexuronic acid from suprarenal glands.* Science, 1932, déc., p. 630.
- WOLFF, VAN EEKELN and EMMERIE. — *Determination of vitamin C.* Acta brevia neerland., 1933, t. 3, p. 44.
- ZILVA. — *The antiscorbutic activity of the cortex of the suprarenal gland of the ox.* Bioch. J., 1932, t. 26, p. 2182.

Librairie Médicale MARCEL VIGNE. — PARIS

